

การเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนจากไขมันเมล็ดงาด้วยวิธี Melt-emulsification



นางสาวขวัญศิริ อุไรวรรณ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)

are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Preparation of Nanostructured Lipid Carriers (NLCs) from Rambutan seed fat  
by a Melt-emulsification technique

Miss Kwansiri Uraiwan



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering  
Department of Chemical Engineering  
Faculty of Engineering  
Chulalongkorn University  
Academic Year 2015  
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนจากไขมันเมล็ดเงาะด้วยวิธี Melt-emulsification
โดย	นางสาวขวัญศิริ อุไรวรรณ
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ดร.ชุตินิพนธ์ สติรพิพัฒน์กุล

---

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร.บัณฑิต เอื้ออาภรณ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ วัฒนศิริ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(ดร.ชุตินิพนธ์ สติรพิพัฒน์กุล)

.....กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุรเทพ เขียวหอม)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(ดร.ศรีเมฆ ชาวโพงพาง)

ขวัญศิริ อุไรวรรณ : การเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนจากไขมันเมล็ดเงาะด้วยวิธี Melt-emulsification (Preparation of Nanostructured Lipid Carriers (NLCs) from Rambutan seed fat by a Melt-emulsification technique) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
หลัก: ดร.ชุตินิพนธ์ สิริพิพัฒน์กุล, 115 หน้า.

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือสกัดไขมันเมล็ดของเงาะ (*Nephelium lappaceum* L.) เพื่อพัฒนาเป็นตัวพาไขมันระดับนาโนเมตร (NLC) ไขมันเมล็ดเงาะถูกสกัดโดยการแช่ในตัวทำละลายเฮกเซนทำการศึกษาอิทธิพลของขนาดอนุภาค อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลายและเวลาในการสกัด ที่ส่งผลต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ ขนาดอนุภาค 0.42-0.59 มิลลิเมตร เวลาในการสกัด 4 ชั่วโมง และ อัตราส่วนของผงเมล็ดต่อตัวทำละลายเป็น 1:10 ปริมาณผลได้ของไขมันเมล็ดที่สูงสุดเป็น 29.45 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง เทคนิค melt-emulsification ถูกนำมาใช้ในการผลิตอนุภาคตัวพาไขมันระดับนาโนเมตร โดยมีวิตามินอี (VE) และสารสกัดจากเมล็ดอ่อนมะม่วง (MSKE) เป็นตัวแทนของตัวยาละลายในไขมันและละลายในน้ำ ตามลำดับ สารละลายของอนุภาคตัวพาไขมันระดับนาโนเมตรถูกเตรียมโดยแปรผันค่าของตัวแปรในกระบวนการผลิต สภาวะที่เหมาะสมได้จากการใช้อัตราส่วน ไขมันเมล็ด (SF) ต่อ กรดสเตียริก (SA) เป็น 3:1 ความเข้มข้น Tween 20 เป็น 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เวลาในการโชนิกเทเท่ากับ 10 นาที และความเข้มข้น วิตามินอี เป็น 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อนุภาคตัวพาไขมันระดับนาโนเมตรบรรจุวิตามินอี มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ  $139.43 \pm 1.15$  นาโนเมตร โดยมีค่าดัชนีการกระจายตัว  $0.165 \pm 0.017$  และค่าศักย์ภาพซีต้า  $-31.0 \pm 0.8$  มิลลิโวลต์ ความสามารถในการกักเก็บตัวยาสสูงสุดมีค่าเท่ากับ 90.59 เปอร์เซ็นต์ ประสิทธิภาพการกักเก็บตัวยาสสามารถปรับปรุงให้ดีขึ้นโดยการเพิ่มอัตราส่วนของไขมันเมล็ดต่อกรดสเตียริกซึ่งผลการทดลองอธิบายได้โดยการวัดค่าการเปลี่ยนแปลงทางความร้อน (DSC) ของอนุภาคตัวพาไขมันระดับนาโนเมตรโดยการรวมตัวของไขมันเมล็ดในอนุภาคตัวพาไขมันระดับนาโนเมตรนำไปสู่ความไม่เป็นระเบียบของโครงสร้างผลึกและทำให้มีพื้นที่ในการรองรับโมเลกุลของตัวยามากขึ้น ความคงตัวทางกายภาพภายใต้อุณหภูมิการเก็บรักษาที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 2 เดือนพบว่า อนุภาคตัวพาไขมันระดับนาโนเมตรบรรจุวิตามินอี มีเสถียรภาพที่ดี พฤติกรรมการปลดปล่อยของวิตามินอี (VE) และสารสกัดจากเมล็ดอ่อนมะม่วง (MSKE) ออกจากอนุภาคตัวพาไขมันระดับนาโนเมตรแสดงให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างกัน

ภาควิชา วิศวกรรมเคมี ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ปีการศึกษา 2558

# # 5670132621 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEYWORDS: MACERATION EXTRACTION, RAMBUTAN SEED FAT, MELT-EMULSIFICATION TECHNIQUE, NANOSTRUCTURED LIPID CARRIERS, ALPHA TOCOPHEROL

KWANSIRI URAIWAN: Preparation of Nanostructured Lipid Carriers (NLCs) from Rambutan seed fat by a Melt-emulsification technique. ADVISOR: CHUTIMON SATIRAPIPATHKUL, Ph.D., 115 pp.

The aim of this research was to extract the seed fat of Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) for developing a nanostructured lipid carriers (NLC). The seed fat was extracted by maceration in hexane. The effects of particle size, the ratio of material per solvent and extraction time on the fat yield were investigated. The optimum extraction conditions were as follows; particle sizes in the range of 0.42-0.59 mm, extraction time of 4 hours and the ratio of seed powder per solvent of 1:10. The maximum yield of seed fat was 29.45 % of the dry weight. The NLC produced by melt-emulsification technique.  $\alpha$ -tocopherol (VE) and mango seed kernel extract (MSKE) were used as a lipophilic and hydrophilic model drug incorporated into the NLC, respectively. NLC dispersions were prepared by varying values of processing parameters. The optimal conditions were obtained by using ratio of seed fat (SF): stearic acid (SA) of 3:1, Tween 20 (5% w/w), sonication time of 10 minute and amount of  $\alpha$ -tocopherol for 5.0 %w/w. VE-loaded-NLC had average particle size of  $139.43 \pm 1.15$  nm with a polydispersity index of  $0.165 \pm 0.017$  and Zeta potential of  $-31.0 \pm 0.8$  mV. Maximum drug entrapment was 90.59%. The drug entrapment efficiency was improved by increasing the ratio of SF: SA. The results were explained by differential scanning calorimetry (DSC) measurement for NLC. The incorporation of seed fat to NLC led to the disturbance of crystal order and thus, generated more space to accommodate drug molecules. The physical stability under the different storage temperatures for 2 months indicated that the VE-loaded-NLC showed good stability. The release behaviors of VE and MSKE from NLCs showed no significant difference.

Department: Chemical Engineering      Student's Signature .....

Field of Study: Chemical Engineering      Advisor's Signature .....

Academic Year: 2015

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีโดยได้รับความอนุเคราะห์ช่วยเหลือที่ดีจากบุคคลต่างๆ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ชุตินิพนธ์ สติรพิพัฒน์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางการวิจัย และให้ข้อคิดเห็นในการแก้ไขปัญหาต่างๆ ตลอดจนช่วยแก้ไขและเพิ่มเติมวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตั้งแต่ต้นจนสำเร็จเป็นรูปเล่ม

ขอขอบพระคุณ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ซึ่งประกอบด้วย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ พัฒนะศรี ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรเทพ เขียวหอม และ ดร. ศรีเมฆ ชาวโพงพาง กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ เพื่อน พี่ และน้อง ๆ ทุกคนที่ได้ให้ความช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี ท้ายที่สุด ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ทุกคนในครอบครัว และท่านผู้มีพระคุณทุกท่าน ที่ได้ให้ความสนับสนุน และเป็นกำลังใจแก่ข้าพเจ้าในการศึกษามาโดยตลอด

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฐ
สารบัญรูปภาพ.....	ฑ
สัญลักษณ์และคำย่อ.....	ด
บทที่ 1 .....	1
บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา .....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย .....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
1.5 การดำเนินงานวิจัย.....	4
บทที่ 2 .....	5
1.5 การดำเนินงานวิจัย.....	5
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 ข้อมูลทั่วไปของเงาะ.....	5
2.2 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดเงาะ.....	6
2.3 ไขมันเมล็ดเงาะ .....	7
2.4 การใช้ประโยชน์ของเมล็ดเงาะ .....	7
2.5 หลักการและวิธีการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร.....	8

2.6	หลักการเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมกับสารที่ต้องการสกัด.....	11
2.7	การเตรียมวัตถุดิบในการสกัดไขมัน.....	12
2.8	ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดไขมันด้วยตัวทำละลาย .....	12
2.8.1	ขนาดวัตถุดิบ .....	12
2.8.2	ระยะเวลาในการสกัด.....	12
2.8.3	ปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด .....	13
2.8.4	ชนิดของตัวทำละลาย .....	13
2.9	ตัวพาไขมันระดับนาโน.....	13
2.10	วิธีการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน .....	18
2.11	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับเทคนิคการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน.....	21
2.12	การทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying หรือ lyophilization).....	22
2.13	แอลฟาโทโคฟีรอล ( $\alpha$ - tocopherol) .....	23
2.14	กรดโอเลอิก (Oleic acid).....	24
2.15	กรดไขมันที่ใช้ในการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน .....	25
2.15.1	กรดสเตียริก (Stearic acid).....	25
2.15.2	ซีทิลแอลกอฮอล์ (Cetyl alcohol) .....	27
2.15.3	กรดปาล์มมิติก (Palmitic acid).....	27
2.16	ลักษณะทางกายภาพของตัวพาไขมันระดับนาโน .....	28
2.16.1	ขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของอนุภาค .....	28
2.16.2	ดัชนีการกระจายตัว (Polydispersity index, PI) .....	28
2.16.3	ค่าศักย์ภาพซีต้า (Zeta potential) .....	29
2.17	ประสิทธิภาพการกักเก็บตัวยา (Drug entrapment efficiency) .....	29
2.18	ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	30



2.18.1 ชนิดของไขมันแข็ง (Lipid).....	30
2.18.2 อัตราส่วนของไขมันแข็งต่อไขมันเหลว.....	31
2.18.3 ชนิดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิว (Surfactant).....	31
2.18.4 เวลาในการโซนิเคท (Ultrasonication time).....	34
2.18.5 ปริมาณของตัวยาหรือสารสำคัญ (Drugs).....	34
บทที่ 3.....	36
อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย.....	36
3.1 วัตถุประสงค์.....	36
3.2 สารเคมีและอุปกรณ์.....	36
3.3 เครื่องมือ.....	38
3.4 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	39
3.4.1 การเตรียมวัตถุดิบก่อนการสกัด.....	39
3.4.2 การศึกษาการสกัดไขมันเงาะ.....	39
3.5 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไขมันเงาะ.....	40
3.5.1 จุดหลอมเหลว (Melting point) และจุดเกิดผลึก (Crystallization point).....	40
3.5.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดเงาะ.....	40
3.5.3 การศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันของไขมันเมล็ดเงาะ.....	41
3.6 การเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนด้วยวิธี melt-emulsification.....	41
3.6.1 อิทธิพลของชนิดของกรดไขมันแข็ง.....	42
3.6.2 อิทธิพลของชนิดของสารลดแรงตึงผิว.....	42
3.6.3 อิทธิพลของอัตราส่วนไขมันเมล็ดเงาะต่อกรดไขมันร่วม.....	42
3.6.4 อิทธิพลของเวลาในการโซนิเคท (Sonication time).....	43
3.6.5 อิทธิพลของความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว.....	43

3.6.6	อิทธิพลของปริมาณสารที่ถูกห่อหุ้มที่ปริมาณต่างๆ ได้แก่ 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยหนักต่อปริมาณไขมันทั้งหมด .....	43
3.6.7	อิทธิพลของชนิดสารสำคัญที่ละลายในน้ำและสารสำคัญที่ละลายในน้ำมัน .....	45
3.7	การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของตัวพาไขมันระดับนาโน.....	45
3.7.1	การวัดขนาดอนุภาคและค่า Zeta potential ของตัวพาไขมันระดับนาโน .....	45
3.7.2	การศึกษาโครงสร้างและขนาดของอนุภาคนาโนไขมันแข็งโดยเทคนิค transmission electron microscopy (TEM).....	45
3.7.3	การวิเคราะห์การทนต่อความร้อนด้วยเครื่อง Differential scanning calorimetry (DSC).....	45
3.7.4	การศึกษาประสิทธิภาพการกักเก็บวิตามินอีของตัวพาไขมันระดับนาโน.....	46
3.7.5	การศึกษาประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงของตัวพาไขมันระดับนาโน 46	
3.7.6	การศึกษาประสิทธิภาพการปลดปล่อยวิตามินอีของตัวพาไขมันระดับนาโน.....	47
3.7.7	การศึกษาประสิทธิภาพการปลดปล่อยสารสกัดของตัวพาไขมันระดับนาโน .....	47
3.7.8	การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของตัวพาไขมันระดับนาโนด้วยเครื่อง FT-IR spectrometer.....	48
3.7.9	การศึกษาความคงตัวของตัวพาไขมันระดับนาโน .....	48
บทที่ 4	.....	49
ผลการทดลอง และวิเคราะห์ผลการทดลอง.....		49
4.1	การสกัดไขมันเมล็ดเงาะ .....	49
4.1.1	ผลของขนาดผงเมล็ดเงาะต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้.....	49
4.1.2	ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้.....	50
4.1.3	ผลของปริมาณตัวทำละลายต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้ .....	51
4.2	สมบัติทางกายภาพและเคมีของไขมันเมล็ดเงาะ .....	52

4.2.1 จุดหลอมเหลว (Melting point) และจุดเกิดผลึก (Crystallization point) ของ ไขมันเมล็ดเงาะ .....	52
4.2.2 องค์ประกอบของเมล็ดเงาะ .....	54
4.2.3 องค์ประกอบของกรดไขมันในไขมันเมล็ดเงาะ .....	54
4.3 ผลการศึกษาการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนชนิด NLC ด้วยวิธี Melt- emulsification .....	56
4.3.1 ผลของชนิดกรดไขมันแข็งที่ส่งผลต่อคุณลักษณะของระบบตัวพาไขมัน NLC .....	56
4.3.2 ผลของชนิดสารลดแรงตึงผิวที่ส่งผลต่อคุณลักษณะของระบบตัวพาไขมัน NLC ...	59
4.3.3 ผลของอัตราส่วนไขมันเมล็ดเงาะต่อกรดไขมันรวมที่ส่งผลต่อคุณลักษณะของระบบ ตัวพาไขมัน NLC .....	61
4.3.4 ผลของเวลาในการโซนิเคท (Sonication time) ที่ส่งผลต่อคุณลักษณะของระบบ ตัวพาไขมัน NLC .....	63
4.3.5 ผลของความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิวที่ส่งผลต่อคุณลักษณะของระบบตัวพาไขมัน NLC	64
4.3.6 ผลของปริมาณวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ที่ถูกห่อหุ้ม .....	67
4.3.7 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางความร้อนของตัวอย่างด้วยวิธี Differential scanning calorimetry (DSC) .....	69
4.3.8 ความคงตัวของตัวพาไขมันระดับนาโน NLC .....	72
4.3.9 ศึกษาโครงสร้างและขนาดของตัวพาไขมันระดับนาโน ด้วยเทคนิค transmission electron microscopy (TEM) .....	74
4.3.10 ประสิทธิภาพการปลดปล่อยวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ของตัวพาไขมันระดับนา โน NLC	76
4.3.11 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของตัวพาไขมันระดับนาโนด้วยเครื่อง FT-IR spectrometer .....	77
บทที่ 5 .....	81

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	81
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	81
5.1.1 การสกัดไขมันจากเมล็ดงา.....	81
5.1.2 การเตรียมอนุภาคตัวพาไขมัน NLC จากไขมันงาพร้อมกับกรดไขมันร่วม.....	81
รายการอ้างอิง.....	84
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	115



## สารบัญตาราง

ตารางที่ 1.1	แผนการเตรียมการ .....	5
ตารางที่ 2.1	องค์ประกอบทางโภชนาการของไขมันเมล็ดเงาะ .....	6
ตารางที่ 2.2	องค์ประกอบของแร่ธาตุในไขมันจากเมล็ดเงาะ .....	6
ตารางที่ 2.3	องค์ประกอบของกรดไขมันในไขมันเมล็ดเงาะ .....	7
ตารางที่ 2.4	เทคนิคการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนและข้อดีของเสียต่างๆ .....	21
ตารางที่ 2.5	ค่า Hydrophile-lipophile balance (HLB) ของสารลดแรงตึงผิว .....	32
ตารางที่ 2.6	ความต้องการค่า HLB ที่ต่างกันของไขมันแต่ละชนิด .....	33
ตารางที่ 2.7	ค่า HLB ที่เหมาะสมกับการประยุกต์ใช้ในการเตรียมอิมัลชันแต่ละชนิด .....	34
ตารางที่ 3.1	เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง .....	38
ตารางที่ 3.2	สูตรในการเตรียมตัวพา NLCs .....	44
ตารางที่ 4.1	องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดเงาะ .....	54
ตารางที่ 4.2	องค์ประกอบของกรดไขมันในไขมันเมล็ดเงาะ .....	55
ตารางที่ 4.3	ลักษณะของอนุภาคน LC ที่เตรียมโดยการแปรผันชนิดกรดไขมันแข่งร่วมกับไขมัน เงาะ .....	57
ตารางที่ 4.4	ลักษณะของอนุภาคน LC ที่เตรียมโดยการแปรผันชนิดของสารลดแรงตึงผิว .....	59
ตารางที่ 4.5	ลักษณะของอนุภาคน LC ที่เตรียมโดยการแปรผันอัตราส่วนไขมันเมล็ดเงาะต่อ ไขมันแข็งชนิดกรดสเตียริก .....	61
ตารางที่ 4.6	ลักษณะของอนุภาคน LC ที่เตรียมโดยการแปรผันเวลาในการโซนิเคท .....	63
ตารางที่ 4.7	ลักษณะของอนุภาคน LC ที่เตรียมโดยการแปรผันความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว .....	64
ตารางที่ 4.8	ลักษณะของอนุภาคน LC ที่เตรียมโดยการแปรผันปริมาณวิตามินอี ( $\alpha$ - tocopherol) .....	68
ตารางที่ 4.9	ตารางสหสัมพันธ์แสดงความยาวคลื่นของแถบ IR ของหมู่ฟังก์ชันต่างๆ .....	78

## สารบัญรูปร่างภาพ

รูปที่ 2.1	ลักษณะของผลเงาะ .....	5
รูปที่ 2.2	เครื่องบีบสกัดน้ำมัน.....	9
รูปที่ 2.3	ชุดสกัด Soxhlet extraction [11].....	11
รูปที่ 2.4	(ซ้าย) ลักษณะของอนุภาคนาโนไขมันชนิด SLNs และ (ขวา) NLCs .....	14
รูปที่ 2.5	อนุภาคนาโนแพร่กระจายได้อย่างอิสระในระบบที่อนุภาคมีความเข้มข้นต่ำอาจเกิดการชนและรวมตัว (บน) ; ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของอนุภาคสูง อนุภาคอยู่ในลักษณะเป็นโครงข่ายที่คงที่ เมื่อเจือจางด้วยน้ำ อนุภาคก็จะกระจายตัวออกจากกันเป็นอนุภาคนาโนอย่างชัดเจน (ดัดแปลงจาก Müller และคณะ ปี 2002) [18] .....	15
รูปที่ 2.6	การเตรียมผลิตภัณฑ์ตัวพาไขมัน NLC.....	16
รูปที่ 2.7	กระบวนการในการเตรียมอนุภาคนาโนไขมันด้วยวิธี.....	19
รูปที่ 2.8	ปรากฏการณ์ออสวาร์ดริพเพนนิ่ง (Ostwald ripening) เป็นกลไกการสลายตัวของอิมัลชัน โดยน้ำ ไขมันแพร่ออกจากอนุภาคที่มีขนาดเล็กไปสู่อนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่า ทำให้อิมัลชันมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยโดยรวม เพิ่มขึ้นตามเวลา (ก) เป็นรูปอิมัลชันเมื่อเวลาเริ่มต้น (ข) และ (ค) เป็นอิมัลชันที่เก็บไว้ที่ระยะเวลาเพิ่มขึ้น ตามลำดับ (ดัดแปลงจาก สุวิมล และคณะ (2556) [32].....	22
รูปที่ 2.9	โครงสร้างของแอลฟาโทโคฟีรอล ( $\alpha$ - tocopherol) .....	23
รูปที่ 2.10	โครงสร้างของกรดโอเลอิก (Oleic acid) .....	24
รูปที่ 2.11	โครงสร้างของกรดสเตียริก (Stearic acid) .....	26
รูปที่ 2.12	โครงสร้างของซีทิลแอลกอฮอล์ (Cetyl alcohol).....	27
รูปที่ 2.13	โครงสร้างของกรดปาล์มมิติก (Palmitic acid).....	27
รูปที่ 3.1	การเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนด้วยวิธี melt-emulsification.....	41
รูปที่ 4.1	ผลของขนาดผงเมล็ดเงาะต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้ .....	49
รูปที่ 4.2	ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้ .....	50
รูปที่ 4.3	ผลของปริมาณตัวทำละลายเฮกเซนต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้.....	51

รูปที่ 4.4 จุดหลอมเหลวและจุดเกิดผลึกของไขมันเมล็ดเงาะ .....	52
รูปที่ 4.5 ไขมันเมล็ดเงาะเมื่อหลอมละลาย (ก) และแข็งตัว (ข) .....	56
รูปที่ 4.6 สารละลายตัวพาไขมัน NLC ที่เตรียมได้จากไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับไขมันแข็งชนิด ต่างๆ .....	58
รูปที่ 4.7 สารละลายตัวพา NLC ที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ.....	60
รูปที่ 4.8 ประสิทธิภาพการกักเก็บวิตามินอี ของตัวพาไขมันที่เตรียมได้จากการแปรผันอัตราส่วน ของไขมันเงาะต่อกรดสเตียริก.....	62
รูปที่ 4.9 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตร (NLC) ที่เตรียมจาก ไขมันเงาะต่อกรดสเตียริก 3:1 และ Tween 20 เข้มข้น 1.5 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ห่อหุ้ม วิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) 5.0 เปอร์เซ็นต์ .....	66
รูปที่ 4.10 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนไขมัน NLC ที่เตรียมจากไขมันเงาะร่วมกับ กรดสเตียริกที่อัตราส่วน 3:1 ห่อหุ้มวิตามินอี 5 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ tween 20 เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ .....	67
รูปที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงของขนาดอนุภาคและศักยภาพซีต้าของตัวพา NLC โดยแปรผัน ปริมาณวิตามินอีที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์.....	68
รูปที่ 4.12 การวิเคราะห์ DSC ของไขมันเงาะร่วมกับกรดสเตียริกอัตราส่วน 1:3 2:2 และ 3:1 .	69
รูปที่ 4.13 การวิเคราะห์ DSC ของตัวพา NLC เมื่อแปรผันความเข้มข้นของวิตามินอีที่ 5 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ .....	70
รูปที่ 4.14 ขนาดอนุภาค (ก) และศักยภาพซีต้า (ZP) (ข) ของตัวพา NLC (วิตามินอี 5 เปอร์เซ็นต์) ที่แปรผันความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเป็น 1 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน.....	72
รูปที่ 4.15 ขนาดอนุภาค (ก) และศักยภาพซีต้า (ZP) (ข) ของตัวพา NLC (วิตามินอีเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์, Tween20 เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์) ที่อยู่ในสารละลายเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน .....	73
รูปที่ 4.16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคตัวพาไขมัน NLC ที่เตรียมโดยใช้ Tween20 ความเข้มข้น 1.5% (ก) 3.0% (ข) และ 5.0% (ค) ด้วยเทคนิคแบบจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบ ส่องผ่าน (Transmission electron microscope, TEM) .....	74

รูปที่ 4.17 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคตัวพาไขมัน NLC ที่เตรียมโดยใช้ Tween20 ความเข้มข้น 5% ด้วยเทคนิคแบบจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องผ่าน .....	75
รูปที่ 4.18 ลักษณะการปลดปล่อยวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ของตัวพา NLC ที่ห่อหุ้มวิตามินอี เข้มข้น 4.33 เปอร์เซ็นต์ เทียบกับสารละลายวิตามินอี เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง .....	76
รูปที่ 4.19 หมูฟุ้งกึ่งชั้นของกรดสเตียริก ไขมันเงาะ วิตามินอี และตัวพาไขมัน NLC.....	77
รูปที่ 4.20 การปลดปล่อยวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) เข้มข้น 4.33 เปอร์เซ็นต์ (VE4.33%-NLC) และ สารสกัดเมล็ดอ่อนมะม่วง (Mango seed kernel extracted) เข้มข้น 3.38 เปอร์เซ็นต์ (MSKE3.38%-NLC).....	80
ภาพผนวกที่ ก 1 เมล็ดเงาะหลังจากการล้างทำความสะอาดและแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออก .....	92
ภาพผนวกที่ ก 2 ไขมันเมล็ดเงาะหลังการหลอมละลาย .....	92
ภาพผนวกที่ ก 3 ไขมันเมล็ดเงาะเมื่อแข็งตัว.....	92
ภาพผนวกที่ ค 1 แปรผันชนิดไขมันแข็ง เซทิลแอลกอฮอล์ กรดสเตียริก และ กรดปาล์มมิติก..	95
ภาพผนวกที่ ค 2 ภาพการรวมตัว เมื่อเตรียมด้วยไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับกรดปาล์มมิติก.....	95
ภาพผนวกที่ ค 3 สารละลายตัวพา NLC ที่เตรียมได้จากการแปรผันอัตราส่วนของไขมันเมล็ดเงาะต่อกรดสเตียริก เท่ากับ 4:0 3:1 2:2 1:3 และ 0:4 .....	95
ภาพผนวกที่ ค 4 การรวมตัวของอนุภาคในสารละลายคอลลอยด์ของตัวพา NLC ที่เตรียมจากอัตราส่วน SF:SA เท่ากับ 0:4 .....	96



## สัญลักษณ์และคำย่อ

NLC	Nanostructured lipid carrier
SLN	Solid lipid nanoparticle
PI	Polydispersity Index
ZP	Zeta potential
SF	Seed fat
SA	Stearic acid
CA	Cetyl alcohol
PA	Palmitic acid
VE	Vitamin E หรือ $\alpha$ -tocopherol
DSC	Differential scanning calorimetry
TEM	Transmission electron microscopy
mV	มิลลิโวลต์
mg	มิลลิกรัม
ml	มิลลิลิตร
°C	องศาเซลเซียส

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

เงาะเป็นผลไม้เมืองร้อนที่นิยมปลูกในประเทศไทย จนสามารถผลิตเงาะกระป๋องในระดับอุตสาหกรรมจนส่งออกเป็นรายใหญ่ของโลก แต่อย่างไรก็ดี ส่วนเปลือกและเมล็ดก็กลายเป็นขยะเหลือทิ้ง โดยปริมาณของเมล็ดเงาะที่ทิ้งต่อปี มีปริมาณมากถึง 170 ตันต่อปี (โรงงานมาลีสามพราน) จึงมีความสนใจที่ต้องการเพิ่มมูลค่าให้กับเมล็ดเงาะเหลือทิ้ง ซึ่งที่ผ่านมา ก็มีนักวิจัยหลายท่านได้นำเมล็ดเงาะมาวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนาการ โดยองค์ประกอบหลักของเมล็ดเงาะ คือ คาร์โบไฮเดรตและไขมัน โดยมีปริมาณไขมันสูงถึง 30-40 เปอร์เซ็นต์ [1, 2] ของเมล็ดเงาะแม้ว่าที่ผ่านมามีการนำเมล็ดเงาะมาศึกษา ทำงานวิจัยและนำไปผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆหลายอย่าง เช่นศึกษาสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นสารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน [3-5] รวมถึงใช้ไขมันเมล็ดเงาะผลิตสบู่ เทียนไข [6] ผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซล [7] หรือการนำคาร์โบไฮเดรตจากเมล็ดเงาะไปใช้โดยตรง [8] แต่ยังไม่เป็นที่แพร่หลายมากนัก ซึ่งจะเห็นได้ว่ายังไม่มีใครนำไขมันเมล็ดเงาะไปประยุกต์ใช้ทางด้านเครื่องสำอางหรือยา

จากงานวิจัยของ Solís-Fuentes และคณะ (2010) [1] ที่ผ่านมามีพบว่าไขมันที่ได้จากเมล็ดเงาะ มีส่วนประกอบของกรดโอเลอิก (oleic acid) อยู่เป็นจำนวนมากถึง 40 เปอร์เซ็นต์ซึ่งโอเลอิก มีสารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Antioxidant) ที่ช่วยในเรื่องการชะลอความแก่ อีกทั้งยังช่วยลดการสูญเสียความชุ่มชื้นของผิวได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย ด้วยคุณสมบัติที่ดีนี้จึงมีคณาจารย์นำไขมันโอเลอิกมาใช้ในการทอหุ้มสารสำคัญที่อยู่ในเครื่องสำอาง ยา และอาหารเสริมในปัจจุบันอย่างกว้างขวาง

ตัวพาไขมันระดับนาโนเมตร หรือ Solid lipid nanoparticles (SLNs) เป็นการเตรียมอนุภาคนาโนโดยใช้ไขมันชนิดไขมันแข็งเป็นตัวห่อหุ้มตัวยาหรือสารสำคัญ ซึ่งสาเหตุที่ต้องห่อหุ้มสารสำคัญเหล่านั้นไว้ในอนุภาคนาโน เนื่องจากสารสำคัญบางตัวไม่เสถียรเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อม เช่นไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ สภาพกรดเบส การที่เราห่อหุ้มมันไว้ในอนุภาคไขมัน เป็นการช่วยเก็บรักษาคุณสมบัติของตัวยาหรือสารสำคัญไว้ ก่อนที่จะเข้าสู่ผิวหรืออวัยวะเป้าหมายที่ต้องการได้อย่างปลอดภัยและยังคงประสิทธิภาพที่ดี และต่อมาก็ได้มีการพัฒนามาเป็นตัวพาไขมันระดับนาโน หรือ

Nanostructured lipid carriers (NLCs) ข้อแตกต่างของ NLC กับ SLN ก็คือ SLN เตรียมได้จากไขมันแข็งเพียงอย่างเดียว แต่ NLC จะใช้ทั้งไขมันแข็งและไขมันเหลว ซึ่งข้อได้เปรียบของ NLC ก็คือทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวยาหรือสารสำคัญและมีการควบคุมการปลดปล่อยตัวยาหรือสารสำคัญออกมาจากตำรับที่ดีกว่า SLN

ในงานวิจัยนี้จึงจะศึกษาการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน โดยใช้ไขมันจากเมล็ดเงาะร่วมกับกรดสเตียริก ซิทิลแอลกอฮอล์ และ กรดปาล์มมิติก ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งที่ยิยมใช้ในเครื่องสำอาง เนื่องจากเป็นไขมันและน้ำมันที่ได้จากพืชและสัตว์จึงค่อนข้างปลอดภัยต่อมนุษย์ รวมทั้งใช้วิตามินอีเป็นตัวแทนของสารสำคัญที่ชอบไขมัน (Lipophilic drugs) ด้วยวิธี Melt-emulsification เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตภัณฑ์อาหารเสริม ยา และเครื่องสำอาง เพื่อประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาการสกัดไขมันจากเมล็ดเงาะด้วยตัวทำละลายและทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของไขมัน

1.2.2 ศึกษาการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนจากไขมันเงาะด้วยเทคนิค Melt-emulsification รวมทั้งศึกษาสมบัติทางกายภาพและเคมีของตัวพาไขมันระดับนาโน

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาการสกัดไขมันจากเมล็ดเงาะด้วย วิธีสกัดแบบแช่ (Maceration extraction) ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนโดยแปรผันปัจจัยต่างๆ ดังนี้ คือ

1.3.1.1 ขนาดเมล็ดเงาะ ได้แก่ ขนาดใหญ่กว่า 1.68, 0.85-1.00, 0.42-0.59 และขนาดเล็กกว่า 0.25 มิลลิเมตร

1.3.1.2 ระยะเวลาในการสกัด ได้แก่ 4, 8, 12 และ 24 ชั่วโมง

1.3.1.3 อัตราส่วนของปริมาณวัตถุดิบต่อปริมาณตัวทำละลายเฮกเซนเป็น 1:5, 1:7.5 และ 1:10 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

1.3.2 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดเงาะและไขมันเงาะที่สกัดได้

1.3.2.1 จุดหลอมเหลว (Melting point) และจุดเกิดผลึก (Crystallization point)

1.3.2.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดเงาะ

1.3.2.3 การศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันของไขมันเมล็ดเงาะ

1.3.3 ศึกษาการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน จากไขมันเมล็ดเงาะด้วยวิธี Melt-emulsification โดยแปรผันปัจจัยต่างๆ ดังนี้ คือ

1.3.3.1 ชนิดของกรดไขมันร่วม คือ กรดสเตียริก (Stearic acid), ซิทิลแอลกอฮอล์ (Cetyl alcohol) และ กรดปาล์มมิติก (Palmitic acid)

1.3.3.2 ชนิดของสารลดแรงตึงผิว ได้แก่ Tween 20, Tween 80 และ Poloxamer 188

1.3.3.3 อัตราส่วนไขมันเมล็ดเงาะต่อกรดไขมันร่วมได้แก่ 4:0 3:1 2:2 และ 1:3

1.3.3.4 ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว ในช่วง 1.5 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

1.3.3.5 ปริมาณสารที่ถูกห่อหุ้ม คือ วิตามินอีและสารสกัดสมุนไพรที่ปริมาณต่างๆ ได้แก่ 5 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์โดยหนักต่อปริมาณไขมันทั้งหมด

1.3.4 ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของตัวพาไขมันระดับนาโน

1.3.4.1 วัดขนาดอนุภาคและค่า Zeta potential ของตัวพาไขมันระดับนาโน

1.3.4.2 ศึกษาโครงสร้างและขนาดของตัวพาไขมันระดับนาโน ด้วยเทคนิค Transmission electron microscope (TEM)

1.3.4.3 วิเคราะห์การทนต่อความร้อนของตัวพาไขมันระดับนาโน ด้วยวิธี Differential scanning calorimetry (DSC)

1.3.4.4 ศึกษาประสิทธิภาพการกักเก็บสารห่อหุ้มของตัวพาไขมันระดับนาโน

1.3.4.5 ศึกษาประสิทธิภาพการปลดปล่อยวิตามินอีของตัวพาไขมันระดับนาโน

1.3.4.6 ศึกษาประสิทธิภาพการปลดปล่อยสารสกัดอ่อนมะม่วงของตัวพาไขมันระดับนาโน

1.3.4.7 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของตัวพาไขมันระดับนาโนด้วยเครื่อง FT-IR spectrometer

1.3.4.8 ศึกษาความคงตัวของตัวพาไขมันระดับนาโน

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ข้อมูลกระบวนการในการเตรียมอนุภาคนาโนไขมันแข็งจากไขมันที่สกัดจากเมล็ดเงาะ โดยข้อมูลที่ได้สามารถใช้เป็นแนวทางในการเก็บกักสารสำคัญอย่างประสิทธิภาพเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมผลิตเครื่องสำอาง และยารักษาโรค นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่เมล็ดเงาะเหลือทิ้ง

## 1.5 การดำเนินงานวิจัย

### ตารางที่ 1.1 แผนการเตรียมการ

การดำเนินงาน	ภาคการศึกษาที่ 1/2557					ภาคการศึกษาที่ 2/2557					ภาคการศึกษาที่ 1/2558				
	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.
1. ศึกษาหัวข้อโครงการและค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้อง															
2. ศึกษาการสกัดไขมันจากเมล็ดงา															
3. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของไขมันงาที่สกัดได้															
4. ศึกษาการเตรียมตัวพลาสมาไขมันระดับนาโนจากไขมันเมล็ดงา															
5. ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของตัวพลาสมาไขมันระดับนาโน															
6. วิเคราะห์ผลการวิจัย															
7. สรุปผลการศึกษาและจัดทำรายงาน															

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1. ข้อมูลทั่วไปของเงาะ



รูปที่ 2.1 ลักษณะของผลเงาะ

ชื่อสามัญ : เงาะ (Rambutan)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Nephelium lappaceum* Linn.

ชื่ออื่น : ปัตตานีเรียกว่า กะเมาะแต มอแต พรวน เงาะป่า

Apiaceae

: เงาะเป็นผลไม้เมืองร้อน เจริญเติบโตได้ดี ในบริเวณที่มีความชื้นค่อนข้างสูงมีถิ่นกำเนิดใน  
เอเชียและอินโดนีเซีย และแพร่ขยายมาปลูกมากในประเทศไทย ซึ่งนิยมปลูกในภาคใต้และ  
ภาคกลาง สายพันธุ์ที่นิยมเพาะปลูกมากที่สุดก็ได้แก่ พันธุ์โรงเรียน (เงาะโรงเรียน) พันธุ์สีทอง  
 เป็นต้น

พฤกษศาสตร์ : เงาะเป็นพรรณไม้ยืนต้นขนาดกลางแตกกิ่งก้าน ใบ ลักษณะคล้ายรูปขน  
รูปโค้งหรือรูปไข่ ดอก เงาะนั้นจะออกดอกออกช่อๆ อยู่ที่ปลายช่อ เป็นกลุ่มย่อยๆ มีสีนวล  
 รูปร่างวงรี มีขนยาว ผลดิบมีสีเขียว ผลสุกจะเปลี่ยนเป็นสีแดง และเขียวอมเหลือง ขึ้นอยู่  
 เงาะ เนื้อในนั้นมีสีขาว รสหวาน เมล็ด เป็นรูปขนาน และคลุมด้วยเนื้อเยื่อสีขาว

สรรพคุณ : เงาะมีสารที่มีชื่อว่า แทนนิน ซึ่งแทนนินนี้สามารถใช้ฟอกหนัง ย้อมผ้า บำบัดน้ำเสีย ยับยั้ง  
 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ป้องกันแมลง ทำเป็นปุ๋ย ทำเป็นกาว และทำยารักษาโรค แต่มีโทษคือ  
 แทนนินมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร หากกินเข้าไปมากจะทำให้รู้สึก  
 ท้องอืด หรือท้องผูก มีอาการเหมือนกับการดื่มน้ำชา เปลือกผลของเงาะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

## 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดเงาะ

จากงานวิจัยของ Tindall (1994) [6] รายงานว่าในผลเงาะหนึ่งผลจะมีน้ำหนักประมาณ 20-60 กรัม ประกอบด้วยเนื้อเงาะประมาณ 30-58 เปอร์เซ็นต์ เปลือกประมาณ 40-60 เปอร์เซ็นต์ และเมล็ดเงาะ 4-9 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในงานวิจัยของ Harahap และคณะ (2012) [2] พบว่าเมล็ดเงาะจะมีองค์ประกอบของไขมันสูงถึง 38.9 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันจากดอกทานตะวันและน้ำมันปาล์ม ที่มีอยู่ 32 เปอร์เซ็นต์ และ 36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งยังเป็นแหล่งของสารอาหารได้แก่ โปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในปริมาณสูง ดังแสดงในตาราง ที่ 2.1 นอกจากนี้ไขมันที่ได้จากเมล็ดเงาะยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบได้แก่ แคลเซียมและแมกนีเซียม ที่มีปริมาณสูงถึง 160.31 และ 50.01 มิลลิกรัมต่อ100 กรัมของไขมัน ตามลำดับ รวมทั้งแร่ธาตุอื่นที่แสดงอยู่ในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางโภชนาการของไขมันเมล็ดเงาะ

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (%)
ไขมัน	38.9±0.32
โปรตีน	12.40±0.22
คาร์โบไฮเดรต	48.10±0.65
เถ้า	2.26±0.42
ความชื้น	0.31±0.43

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบของแร่ธาตุในไขมันจากเมล็ดเงาะ

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (มิลลิกรัม/100กรัม)
แมกนีเซียม	51.01±1.80
แมงกานีส	1.62±0.30
นิกเกิล	0.24±0.001
คอปเปอร์	0.83±0.04
ซิงค์	40.61±0.70
แคลเซียม	160.31±7.90
เหล็ก	24.77±4.10

### 2.3 ไขมันเมล็ดเงาะ

กรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบของไขมันเมล็ดเงาะประกอบไปด้วย กรดโอเลอิก และ กรดอะราคิติก ประมาณ 70-75 เปอร์เซ็นต์ กรดไขมันอื่นๆ แสดงในตารางที่ 2.3 ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไขมันเมล็ดเงาะ เป็นกรดไขมันอิ่มตัว

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบของกรดไขมันในไขมันเมล็ดเงาะ

ชนิด และลักษณะโครงสร้าง ของกรดไขมัน	เปอร์เซ็นต์ (%)		
	Solis- Fuentes และ คณะ (2010)	Sirisompong และคณะ (2011)	Harahap และคณะ (2012)
กรดปาล์มมิติก C(16:0)	6.1	4.69	5.15
กรดปาล์มมิโทเลอิก C(16:1)	1.5	0.49	1.23
กรดสเตียริก C(18:0)	7.1	7.03	2.31
กรดโอเลอิก C(18:1)	40.3	36.79	40.45
กรดอะราคิติก C(20:0)	34.5	34.32	36.36
กรดกอนโดอิก C(20:1)	6.3	n.d.	4.92
กรดเบเฮติก C(22:0)	2.9	3.1	2.44

หมายเหตุ n.d. = not determined

### 2.4 การใช้ประโยชน์ของเมล็ดเงาะ

จากการศึกษาวิจัยของ Tindall (1994) [6] มีการนำเมล็ดเงาะไปใช้ในการผลิต สบู่ เทียนไข หรือเป็นการนำคาร์โบไฮเดรตจากเมล็ดเงาะไปใช้โดยตรง และในงานวิจัยของ นัฐวี (2551) [7] ได้ศึกษาการนำไขมันจากเมล็ดเงาะไปผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซลแต่ยังไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากพบว่าน้ำมันไบโอดีเซลที่ผลิตได้เกิดไขง่าย แต่งานวิจัยที่พบมากก็คือ การนำเมล็ดเงาะไปศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน [8] ในงานวิจัยของวรรณรดา (2553) [9] ที่ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดเงาะ รายงานว่าเมล็ดเงาะมีไขมันเป็นองค์ประกอบ ในปริมาณ 37.35 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก โดยพบว่าไขมันเงาะมีลักษณะเป็นไขมันแข็งสีขาวที่ อุณหภูมิห้องและมีจุดหลอมเหลวที่ 37.4 องศาเซลเซียส มีค่าสaponification (Saponification value) เท่ากับ  $166 \pm 3$  (mg KOH/g oil) ค่าไอโอดีน (Iodine value)  $41.6 \pm 1.2$  (g/100 g oil)



และมืองค์ประกอบของกรดไขมัน ได้แก่ กรดโอเลอิก (C18:1) กรดไลโนเลนิก (C18:3) กรดอะราคิดิก (C20:0) กรดสเตียริก (C18:0) และกรดปาล์มมิติก (C16:0) เท่ากับ 36.79, 6.48 , 34.32, 7.03 และ 4.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

## 2.5 หลักการและวิธีการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร

### 2.5.1 หลักการสกัดไขมันจากเมล็ดพืชด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction)

การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรเป็นที่สนใจของทั่วโลกในปัจจุบัน เนื่องจากสารสำคัญต่างๆมีฤทธิ์ทางยา สามารถนำไปเป็นทางเลือก ในการใช้ป้องกันและรักษาโรคทางด้านการแพทย์ [10] ที่ผ่านมามีวิธีการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรที่หลากหลาย และมีการพัฒนาวิธีการสกัดมาเรื่อยๆ จนถึงปัจจุบัน

การสกัดน้ำมันหอมระเหย (Extraction of volatile oil)

1. Resorption เป็นวิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการดูดซับ ใช้สกัดกลีบดอก
2. Solvent extraction เป็นการสกัดน้ำมันหอมระเหย โดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม
3. Mechanical Expression เป็นการสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยการบีบ เช่นน้ำหอม ระเหย

จากเปลือกผลไม้

4. Steam distillation เป็นการกลั่นน้ำมันหอมระเหยโดยใช้ไอน้ำ
5. Water distillation เป็นวิธีการกลั่นน้ำมันหอมระเหยโดยการต้มสมุนไพรกับน้ำ

การสกัดด้วยตัวทำละลาย เป็นกระบวนการสกัดไขมันหรือน้ำมันที่นิยมมากที่สุด โดยวิธีการสกัดทำได้โดยการให้ตัวทำละลายซึมผ่านเข้าสู่วัตถุดิบที่บดละเอียด ไขมันหรือน้ำมันจะละลายออกมา กับตัวทำละลายเนื่องจาก ไขมันหรือน้ำมันและตัวทำละลายเป็นโมเลกุลที่ไม่มีขั้วเหมือนกัน หลังจากนั้นจึงระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นสุญญากาศ ซึ่งตัวทำละลายที่นิยมส่วนใหญ่ใช้ได้แก่ เฮกเซน และ ปีโตรเลียมอีเทอร์

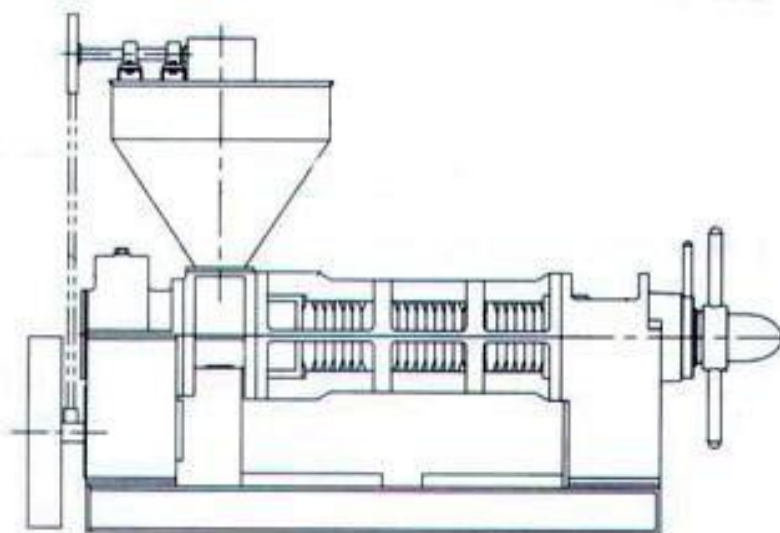
### ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญในพืช

1. ชนิดของพืช (species)
2. สภาพแวดล้อม (Environmental)
3. เทคนิคการปลูกและบำรุงรักษา (Cultural technology)
4. ช่วงการเก็บรักษา (harvesting period)
5. วิธีการเก็บรักษา (storage)
6. วิธีการแปรรูป (processing)

## 2.5.2 วิธีการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร

### 2.5.2.1 การบีบอัดแบบร้อน (Hot pressing)

การบีบหรือใช้แรงอัด (Hydraulic Pressing) การสกัดโดยการบีบอัดเป็นวิธีที่นิยมใช้กับเมล็ดพืชที่มีน้ำมันเป็นองค์ประกอบ เครื่องบีบมีหลายชนิดและกระบวนการมีทั้งกระบวนการแบบไม่ต่อเนื่อง (Batch Pressing) และกระบวนการแบบต่อเนื่อง (Continuous Pressing) ซึ่งอาจเป็นการใช้แรงอัดแบบเย็น (Cold Pressing) หรือการใช้แรงอัดแบบร้อน (Hot Pressing) ก็ได้ การใช้แรงอัดแบบเย็น นิยมใช้กับเมล็ดพืชที่มีปริมาณน้ำมันสูง เช่น งา ถั่วลิสง ถั่วเหลือง และมะพร้าว เป็นต้น แรงกดที่ให้แก่นื้อเยื่อของเมล็ดพืชจะทำให้ผนังเซลล์แตกบีบเอาน้ำมันแยกออกมา น้ำมันที่ได้นำเอาไปใช้ได้โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ น้ำมันงาและน้ำมันถั่วลิสงที่สกัดโดยวิธีนี้จะมึกลิ่นหอมคล้ายกลิ่นถั่ว (Nutty Flavor) ส่วนน้ำมันมะกอกจะมีกลิ่นแรงแต่เป็นกลิ่นที่คนยอมรับ อย่างไรก็ตามการใช้แรงอัดแบบเย็นมีประสิทธิภาพต่ำ เพราะกากยังมีปริมาณน้ำมันเหลืออยู่อีกมาก การใช้แรงอัดแบบร้อน มีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้แรงอัดแบบเย็น กากที่เหลือจากการใช้แรงอัดแบบเย็นจะนำมาทำต่อโดยการใช้แรงอัดแบบร้อน ซึ่งอาจเป็นเครื่องอัดแบบไฮดรอลิก (Hydraulic Batch Press) หรือเครื่องอัดแบบสกรูว์ (Continuous Screw Press) หรือเอ็กซ์เพลเลอร์ (Expeller) การสกัดแยกน้ำมันโดยวิธีเหล่านี้ใช้ความดันประมาณ 1-15 ตันต่อตารางนิ้วและจะมีน้ำมัน เหลืออยู่ในกากเพียง 2-4 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น



รูปที่ 2.2 เครื่องบีบสกัดน้ำมัน

### 2.5.2.2 การหมักแบบต่อเนื่อง (Percolation)

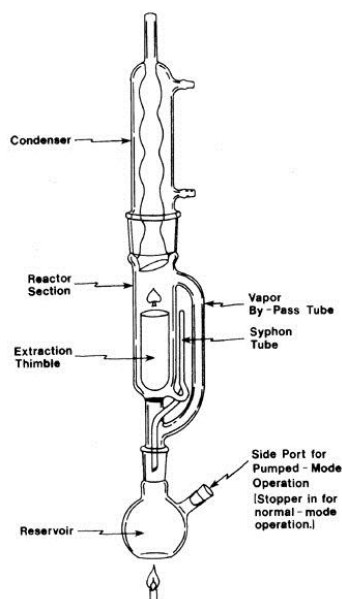
วิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง ทำได้โดยการนำสมุนไพรมาหมักกับตัวทำละลายเพื่อให้สมุนไพรมีความชื้น ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่ แล้วค่อยๆ บรรจุผงยาที่ละเอียด และเติมตัวทำละลายลงไปในระดับที่สูงเหนือสมุนไพร (Solvent head) จึงเริ่มไหลสารออกโดยค่อยๆ เติมตัวทำละลายลงไปอย่าให้แห้ง

### 2.5.2.3 การสกัดเย็นหรือการสกัดแบบแช่ (Maceration extraction)

การสกัดด้วยวิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุด โดยทำการคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมกับสารในพืชสมุนไพรแล้วนำพืชสมุนไพร ใส่ในภาชนะปิด เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปชมพู่หรือโถ การสกัดแบบแช่หรือแบบหมักจะได้ 2 แบบ คือแบบที่แช่ไว้เฉยๆ ทำการเขย่าเป็นเวลา และแช่ไว้อย่างน้อย 7 วัน หรือแบบที่ทำการกวนตลอดเวลาซึ่งจะเรียกว่า kinetic maceration วิธีการกวนตลอดเวลาจะทำให้ใช้เวลาในการสกัดลดลง เนื่องจากการกวนจะทำให้วัตถุดิบไม่เกิดการอัดแน่น ทำให้ตัวทำละลายแทรกซึมเข้าสู่วัตถุดิบได้ดีขึ้น โดยหลังจากการหมักแล้วจะนำมากรองแล้วบีบเอาสารสกัดออกมาจากกากสมุนไพรให้ได้มากที่สุด นำสารละลายสมุนไพรที่ได้ไปทำการกรองเอาเศษสมุนไพรที่ติดออกให้หมด แล้วจึงนำสารที่ได้ไปใช้ประโยชน์ต่อ วิธีนี้มีข้อดีคือ สารสกัดจะไม่ถูกความร้อน ทำให้โอกาสในการสลายตัวของสารสกัดลดลง ข้อเสียของวิธีนี้คือจะสิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

### 2.5.2.4 การสกัดแบบซอกซ์เลต (Soxhlet Extraction)

หลักการของเครื่องมือซอกซ์เลต (soxhlet extraction) ซึ่งลักษณะของอุปกรณ์แสดงดังรูปที่ 2.3 จะใช้ตัวทำละลายในปริมาณน้อย เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารแล้วจะถูกทำให้ระเหยและควบแน่นกลับมาเมื่อเจอระบบหล่อเย็น ทำให้สกัดได้หลายรอบ เป็นลักษณะหมุนเวียน โดยตัวทำละลายที่เราใส่ลงไป เครื่องมือจะหมุนเวียนผ่านสารที่เราต้องการสกัดหลายๆ ครั้งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด จนกระทั่งสารที่เราต้องการสกัดออกมามีปริมาณเข้มข้นมากพอ ข้อดีก็คือเป็นเทคนิคที่มีราคาถูกลง (เฉพาะราคาตัวทำละลาย) ค่อนข้างทำได้ง่าย ไม่ยุ่งยากมากนัก ข้อเสียคือ ใช้เวลาสกัดนาน



รูปที่ 2.3 ชุดสกัด Soxhlet extraction [11]

## 2.6 หลักการเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมกับสารที่ต้องการสกัด

- 2.6.1 ตัวทำละลายสามารถละลายสารที่ต้องการสกัดได้
- 2.6.2 ตัวทำละลายจะต้องไม่ละลายสารอื่นๆที่เราไม่ต้องการ
- 2.6.3 ตัวทำละลายต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการ
- 2.6.4 ตัวทำละลายสามารถแยกออกจากสารที่เราต้องการได้ง่าย
- 2.6.5 ตัวทำละลายต้องไม่เป็นพิษ และมีราคาถูก [12]

วรรณรดา และคณะ (2553) [9] ศึกษาการสกัดไขมันจากเมล็ดเงาะ โดยเปรียบเทียบการใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน และ ปิโตรเลียมอีเธอร์ พบว่าตัวทำละลายเฮกเซนสามารถสกัดไขมันออกมาได้สูงสุด 37.25 เปอร์เซ็นต์ และตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเธอร์สามารถสกัดไขมันออกมาได้สูงสุด 39.85 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นว่า ปริมาณไขมันที่สกัดได้ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ แต่ปิโตรเลียมอีเธอร์ มีราคาแพง เพราะฉะนั้นในการสกัดไขมันจึงนิยมใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย

ในงานวิจัยของ ณัฐวรรณ (2556) [13] เปรียบเทียบระหว่างการใช้เฮกเซน และเอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดไขมันจากเมล็ดเงาะ พบว่าในการสกัดแบบแช่เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เฮกเซนสามารถสกัดไขมันจากเมล็ดเงาะออกมาได้ 22.16 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เอทานอลสกัดไขมันออกมาได้ 9.97 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นว่าตัวทำละลายเฮกเซนมีประสิทธิภาพในการสกัดไขมันออกมาได้มากกว่าเอทานอล อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากตัวทำละลายเฮกเซนมีความเป็นไม่มีขั้วมากกว่าจึงสกัดไขมันออกมาได้มากกว่า

เมื่อทราบหลักการสกัดไขมันและน้ำมันด้วยตัวทำละลายและหลักการเลือกตัวทำละลายแล้ว ต่อไปเป็นขั้นตอนในการสกัดไขมันหรือน้ำมันด้วยตัวทำละลายมีดังนี้

## 2.7 การเตรียมวัตถุดิบในการสกัดไขมัน

ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบก่อนการสกัด ขั้นแรกคือชำระล้างสิ่งปนเปื้อนและปอกเปลือกหุ้มเมล็ดออก จากนั้นนำไปอบหรือตากให้แห้ง เพื่อให้ง่ายต่อการตัดหรือบดวัตถุดิบให้มีขนาดเล็กกลงเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวให้สามารถสัมผัสกับตัวทำละลายได้มากขึ้น หลังจากบดละเอียดแล้วจึงนำไปอบแห้งเพื่อลดความชื้น โดยความชื้นที่เหมาะสมของวัตถุดิบคือ 5-11 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากหากวัตถุดิบมีปริมาณน้ำหรือความชื้นมากเกินไป จะไปรบกวนการแทรกซึมของตัวทำละลายที่เข้าสู่ตัวอย่าง ซึ่งจะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการสกัดไขมันหรือน้ำมันลดลง [9]

## 2.8 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดไขมันด้วยตัวทำละลาย

ในการสกัดไขมันออกจากวัตถุดิบยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดไขมันของตัวทำละลายอีกหลายปัจจัยดังนี้

### 2.8.1 ขนาดวัตถุดิบ

ขนาดของวัตถุดิบควรมีความเหมาะสม ถ้าหากวัตถุดิบมีขนาดใหญ่มากเกินไปจะทำให้ตัวทำละลายไม่สามารถแทรกซึมเข้าสู่วัตถุดิบได้อย่างสมบูรณ์ จึงต้องทำให้วัตถุดิบมีขนาดเล็กกลง แต่ก็ไม่ควรละเอียดมากจนเกินไป เนื่องจากวัตถุดิบอาจเกิดการอัดแน่น ทำให้ตัวทำละลายแทรกซึมเข้าสู่วัตถุดิบได้ยากอีกเช่นกัน [9]

### 2.8.2 ระยะเวลาในการสกัด

ระยะเวลาในการสกัดส่งผลต่อปริมาณไขมันและน้ำมันที่สกัดได้ เป็นเพราะว่าหากให้เวลากับตัวทำละลายในการสกัดไขมันออกจากวัตถุดิบน้อยเกินไป อาจไม่เพียงพอ ทำให้ไขมันและน้ำมันถูกสกัดออกมาได้ไม่หมด โดยในรายงานการวิจัยที่ผ่านมาของวรรณรดา และคณะ (2553) [9] พบว่า ระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นจะให้ปริมาณไขมันที่สกัดได้เพิ่มขึ้น โดยเวลาที่เหมาะสมในการสกัดไขมันจากเมล็ดงาด้วยเฮกเซนอยู่ที่ 9 ชั่วโมง และให้ปริมาณไขมันเมล็ดงา 37.35 เปอร์เซ็นต์

### 2.8.3 ปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

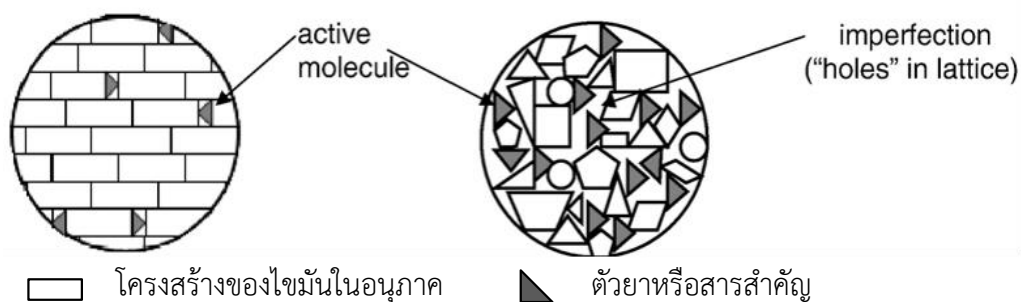
ในการสกัดไขมันและน้ำมันต้องใช้ปริมาณตัวทำละลายให้เหมาะสม การใช้ตัวทำละลายในปริมาณมากขึ้นก็จะทำให้การสกัดไขมันออกมาได้มาก แต่หากใช้ปริมาณมากเกินไปก็จะใช้เวลาในการระเหยนาน [9]

### 2.8.4 ชนิดของตัวทำละลาย

ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดไขมันและน้ำมันที่นิยมใช้ได้แก่ เฮกเซน อะซิโตน และ ปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยตัวทำละลายแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติเฉพาะแตกต่างกัน จึงต้องเลือกใช้ให้เหมาะสม โดยจะเห็นจากการศึกษาการสกัดน้ำมันจากเมล็ดงาโดยเปรียบเทียบระหว่างตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน และ ปิโตรเลียมอีเทอร์ พบว่าการสกัดโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์จะให้ปริมาณไขมันสูงกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน แต่การสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์จะต้องใช้เวลาในการสกัดนานเกือบ 11 ชั่วโมง และความชื้นของวัตถุดิบต้องต่ำมากถึง 2.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเฮกเซนใช้เวลาในการสกัด 9 ชั่วโมง และความชื้นที่เหมาะสมคือ 5.67 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นว่าการใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ต้องใช้พลังงานสูงกว่า นอกจากนี้เฮกเซนยังมีราคาถูกกว่าอีกด้วย ดังนั้นการใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายจึงเหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำมันจากเมล็ดงามากกว่า [9]

## 2.9 ตัวพาไขมันระดับนาโน

ตัวพาไขมันระดับนาโนเกิดขึ้นจากการทำอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w emulsions) โดยการแทนที่ไขมันเหลว (liquid lipid) ด้วย ไขมันแข็ง (solid lipid) คือเป็นของแข็งที่อุณหภูมิร่างกาย โดยในยุคแรกของการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนจะเรียกว่าตัวพาไขมันระดับนาโนหรือ solid lipid nanoparticles (SLNs) ซึ่งเป็นการเตรียมจากไขมันชนิดแข็ง (solid lipid) เพียงชนิดเดียว ในยุคต่อมาได้พัฒนาเป็นตัวพาไขมันระดับนาโนหรือ nanostructured lipid carriers (NLCs) ซึ่งเป็นการพัฒนามาเพื่อลดข้อจำกัดของ SLN ที่ยังสามารถห่อหุ้มตัวสารสำคัญได้ในปริมาณน้อย ซึ่งอนุภาค NLC จะถูกผลิตโดยผสมไขมันแข็งและไขมันเหลว ซึ่งของผสมนี้จะแข็งที่อุณหภูมิร่างกาย อนุภาคนาโนไขมันทั้งสองชนิดเตรียมจากไขมันที่มีความปลอดภัยต่อร่างกาย และด้วยโครงสร้างผลึกที่ไม่เป็นระเบียบของ NLCs จึงทำให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวยาหรือสารสำคัญได้ดีกว่าอนุภาคนาโนแบบ SLNs ที่ผลึกมีความเป็นระเบียบสูง ดังจะเห็นได้จากรูปที่ 2.4 ซึ่ง SLN และ NLC สามารถห่อหุ้มได้ทั้งตัวยาหรือสารสำคัญที่ละลายน้ำและละลายไขมัน



รูปที่ 2.4 (ซ้าย) ลักษณะของอนุภาคนาโนไขมันชนิด SLNs และ (ขวา) NLCs

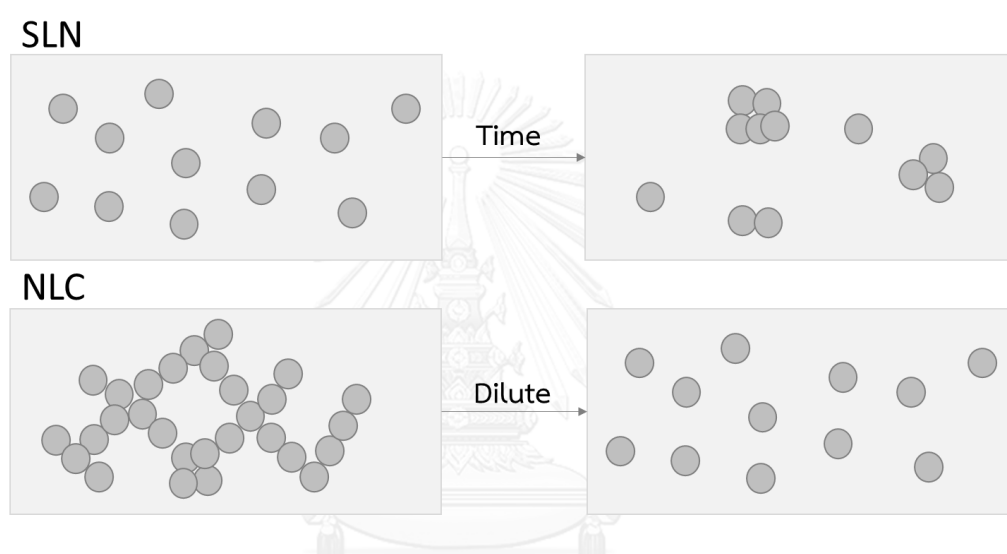
ดัดแปลงมาจาก Müller และคณะ ปี 2007 [14]

ตัวพาชนิด SLN ถูกพัฒนามาตั้งแต่เริ่มต้นปี 1990 เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับระบบนำส่งตัวยาให้กับระบบแบบอิมัลชัน ไลโปโซม และอนุภาคนาโนที่เป็นพอลิเมอร์ โดย SLN เป็นผลิตโดยแทนที่ไขมันเหลวในระบบอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (Oil in water emulsion) ด้วยไขมันแข็งชนิดเดียวหรือหลายชนิดผสมกัน กล่าวคือ ไขมันที่เป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้องหรืออุณหภูมिर่างกาย ใน SLN ประกอบไปด้วย ไขมันแข็งปริมาณ 0.1 ถึง 30 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ที่กระจายในวัฏภาคน้ำ และจำเป็นต้องทำให้ระบบมีความเสถียรด้วยการเติมสารลดแรงตึงผิว (surfactant) 0.5 ถึง 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก มีความเป็นไปได้ในการรวมตัวกับสารสำคัญในเครื่องสำอางและสารออกฤทธิ์ทางเภสัชกรรม อนุภาคเฉลี่ยของ SLN อยู่ในช่วง 40 ถึง 1000 นาโนเมตร [15]

ในยุคที่สองของเทคโนโลยีอนุภาคนาโนไขมัน เป็นการผลิตอนุภาคตัวพาดัวยของผสมระหว่างไขมันเหลวและไขมันแข็ง (น้ำมัน) โดยอัตราส่วนของไขมันแข็งต่อไขมันเหลวที่ใช้จะอยู่ในช่วง 70:30 ถึง 99.9 : 0.1 เนื่องจากการต่ำลงของจุดหลอมเหลวของน้ำมันในส่วนผสมนี้เป็นที่สังเกตเมื่อเทียบกับการใช้ไขมันแข็งชนิดเดียว แต่จากการทดลองพบว่าไขมันผสมในอัตราส่วนนี้ยังคงเป็นของแข็งที่อุณหภูมिर่างกาย [16] ซึ่งตัวพาไขมันระดับนาโนในยุคที่สองนี้ถูกเรียกว่า nanostructured lipid carriers หรือ NLC ซึ่งปริมาณของแข็งใน NLC โดยรวมเพิ่มขึ้นเป็น 95 เปอร์เซ็นต์ [17] และ NLC ยังสามารถกักเก็บสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ในเครื่องสำอางและยาได้เป็นอย่างดี

นอกจากนี้ตัวพา NLC ถูกพัฒนามาเพื่อลดข้อจำกัดที่สำคัญของ SLN นั่นก็คือความสามารถกักเก็บสารสำคัญดังที่กล่าวในหัวข้อ 2.9 และเนื่องจากในการเตรียม SLN ต้องใช้น้ำในระบบ 70-99.9 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เพื่อไม่ให้อนุภาค SLN เกิดการรวมตัวกันเมื่อเวลาผ่านไป ปัญหาที่พบต่อมาคือการนำ SLN ไปใช้ในตำรับครีม เนื่องจากการเตรียมตำรับครีมจะใช้เฉพาะส่วนที่เป็นอนุภาค SLN จึงต้องกำจัดน้ำออกเพื่อให้เหลือแต่อนุภาค SLN การพัฒนากระบวนการผลิตเพื่อลดปริมาณน้ำที่ใช้ในการผลิต SLN ซึ่ง [18]

อีกหนึ่งปัจจัยที่สำคัญคือ เสถียรภาพของตัวพา SLN ที่อยู่ในสารละลายยังต้องถูกพัฒนาให้ดียิ่งขึ้น เนื่องจากพบว่าอนุภาค SLN เกิดการรวมตัวของอนุภาคเมื่อเวลาในระบบที่มีความเข้มข้นของไขมันต่ำและความเข้มข้นของวัฏภาคน้ำสูง โดยผู้รายงานได้ให้เหตุผลว่า เมื่อความเข้มข้นของอนุภาคที่กระจายอยู่ในระบบต่ำ จะทำให้อนุภาคเกิดการแพร่ได้อย่างอิสระ ทำให้เกิดเป็นคอลลอยด์และเกิดการรวมตัวของอนุภาค ซึ่งในระบบที่อนุภาคกระจายอยู่ในสารละลายมีความเข้มข้นสูงจะทำให้อนุภาคในสารละลาย อยู่ในลักษณะเป็นโครงข่ายที่คงที่ จึงทำให้การแพร่และการรวมตัวของอนุภาคลดลง (รูปที่ 2.5)



**รูปที่ 2.5** อนุภาคนาโนแพร่กระจายได้อย่างอิสระในระบบที่อนุภาคมีความเข้มข้นต่ำอาจเกิดการชนและรวมตัว (บน) ; ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของอนุภาคสูง อนุภาคอยู่ในลักษณะเป็นโครงข่ายที่คงที่ เมื่อเจือจางด้วยน้ำ อนุภาคก็จะกระจายตัวออกจากกันเป็นอนุภาคนาโนอย่างชัดเจน (ดัดแปลงจาก Müller และคณะ ปี 2002) [18]

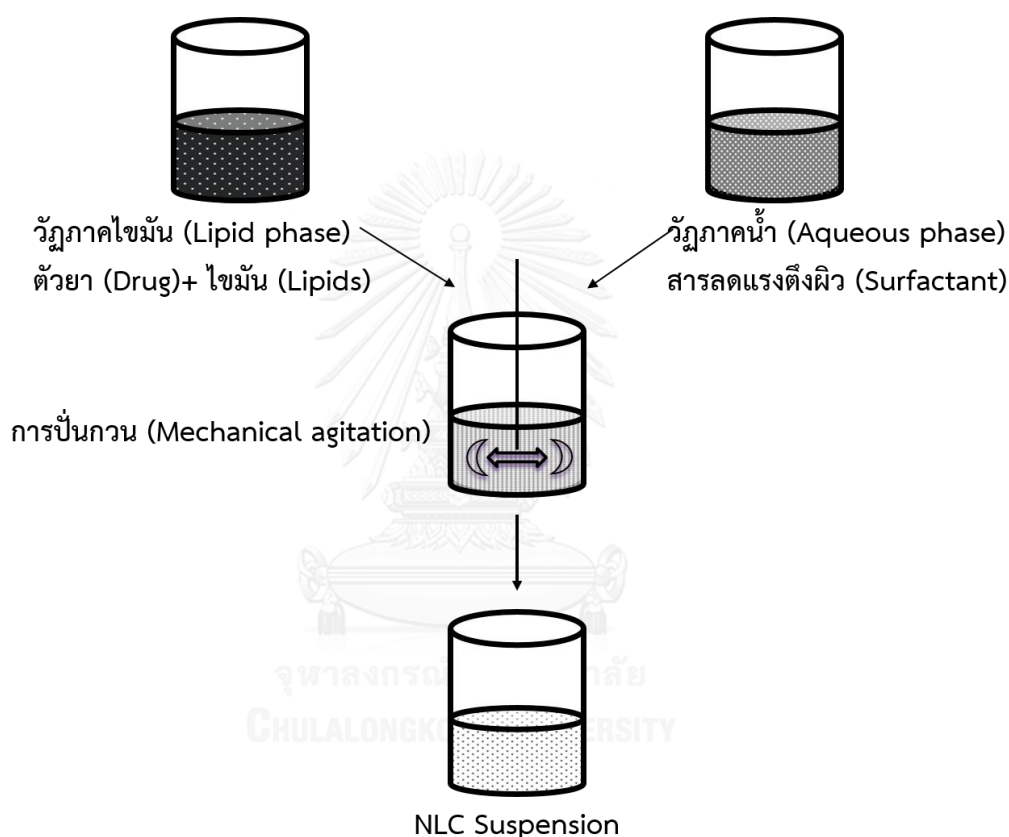
### 2.9.1 การผลิตตัวพาไขมันระดับนาโน (NLC)

การเตรียมตัวพาไขมัน NLC ระบบจะประกอบไปด้วยวัฏภาคไขมัน (Lipid phase) ที่เป็นส่วนผสมของไขมัน (lipids) และตัวยา (Drug) และ วัฏภาคน้ำ (Aqueous phase) ซึ่งได้แก่สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) เริ่มจากการหลอมละลายวัฏภาคไขมันจากนั้นจึงผสมตัวยาหรือสารสำคัญลงในวัฏภาคไขมัน แล้วจึงกระจายวัฏภาคไขมันลงในวัฏภาคน้ำที่ให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิเดียวกับอุณหภูมิที่หลอมละลายไขมัน พร้อมกับการโฮโมจีไนส์ด้วยความเร็วรอบสูงๆ จะได้เป็น pre-



emulsion จากนั้นอีกลักษณะชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w emulsion) ที่ไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องจึงเกิดเป็นอนุภาคตัวพาไขมันแข็งชนิด NLC [19]

โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวใสที่มีความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์สูง ขนาดของอนุภาคในตำรับมักมีขนาดอยู่ระหว่าง 100-400 นาโนเมตร โดยสารลดแรงตึงผิวทำให้อนุภาคสามารถแยกกันอยู่ในสารละลายได้ได้โดยไม่เกิดการรวมตัวกัน ระบบนี้สามารถใช้ได้ทั้งตัวยาหรือสารสำคัญที่มีคุณสมบัติชอบน้ำหรือไม่ชอบน้ำ [14]



รูปที่ 2.6 การเตรียมผลิตภัณฑ์ตัวพาไขมัน NLC

ดัดแปลงจาก Selvamuthukumar, S. และคณะ (2012) [19]

### 2.9.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน

งานวิจัยของ Hu และคณะ (2002) [20] ทำการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนชนิด SLN ด้วยวิธี Emulsion solvent diffusion method โดยใช้โมโนสเตียรีน (Monostearin) เป็นไขมันแข็ง ห่อหุ้ม โคลบีทาซอล โพรพิโอเนต (Clobetasol propionate) ซึ่งเป็นตัวยาที่ละลายไขมัน เป็นยา รักษาโรคเกี่ยวกับผิวหนัง และใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Polyvinyl alcohol, PVA) เป็นสารลดแรง

ติงผิว ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาค่าศักย์ภาพซีต้า ประสิทธิภาพการกักเก็บและการนำส่งตัวยา โดยเมื่อทำการทดสอบการปลดปล่อยตัวยาเป็นระยะเวลา 4 วัน พบว่าตัวยาที่ถูกกักเก็บในตัวพาไขมันชนิด SLN ปลดปล่อยออกมาประมาณ 6 เปอร์เซ็นต์ในแต่ละวัน นอกจากนี้ยังศึกษาการเตรียม SLN ที่สภาวะปกติ (pH 5.73) เปรียบเทียบกับสภาวะที่เป็นกรด (pH 1.10) โดยขนาดอนุภาคที่เตรียมได้ มีค่าเท่ากับ 312.2 และ 381.1 นาโนเมตร ค่าศักย์ภาพซีต้าเท่ากับ -14.3 และ 4.3 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ โดยภายใต้สภาวะที่เป็นกรด เป็นการเพิ่มไอออนบวก ( $H^+$ ) ในสารละลาย ทำให้ค่าศักย์ภาพซีต้าของอนุภาคไขมันจากติดลบไปจนถึงค่าใกล้ศูนย์ จึงทำให้อนุภาคเกิดการรวมตัวกันและง่ายต่อการแยกอนุภาคไขมันออกจากสารละลายด้วยการปั่นเหวี่ยง

Hu และคณะ ปี 2005 [21] ทำการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนชนิด SLN เปรียบเทียบกับชนิด NLC ด้วยวิธี Solvent diffusion method โดยการเตรียม NLC จะใช้กรดสเตียริกเป็นไขมันชนิดแข็งและกรดโอเลอิกเป็นไขมันชนิดเหลว ห่อหุ้ม โคลบีทาซอล โพรพิโอเนต (Clobetasol propionate) จากผลการทดลองรายงานว่าตัวพาไขมันชนิด NLC มีประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวยาได้มากกว่า ชนิด SLN เนื่องจากความแตกต่างของโครงสร้างระหว่างไขมันชนิดแข็งและชนิดเหลว ทำให้โครงสร้างเมทริกซ์ของอนุภาคมีโครงสร้างที่ไม่เป็นระเบียบ จึงส่งผลให้ตัวยาสามารถแทรกตัวอยู่ในตัวพา NLC ในปริมาณมากกว่าโครงสร้างที่เป็นระเบียบของตัวพาไขมันชนิด SLN และในการศึกษาการปลดปล่อยตัวยาของอนุภาคทั้ง 2 ชนิด พบว่าตัวพาไขมันระดับนาโนชนิด SLN ปลดปล่อยตัวยาออกมาได้ช้ากว่าชนิด NLC โดยให้เหตุผลเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Yuan และคณะ (2007) [22] ที่รายงานว่าอัตราการปลดปล่อยตัวยามากขึ้นเมื่อปริมาณกรดโอเลอิกเพิ่มขึ้นเนื่องจากตัวยาสามารถแทรกตัวผ่านไขมันชนิดเหลวได้ดีกว่าไขมันแข็ง

และงานวิจัยของ Patel และคณะ (2012) [23] ศึกษาการขึ้นรูปตัวพาไขมันขนาดนาโนด้วยกรดสเตียริกร่วมกับกรดโอเลอิก ด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธี ได้แก่ melt-emulsification low-temperature solidification และ high-speed homogenization methods พบว่าอนุภาค NLC ที่อยู่ในสารละลายมีขนาดอยู่ระหว่าง 233 และ 286 นาโนเมตร และมีประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวยา aceclofenac ที่ละลายได้ในไขมันได้สูงถึง 67 ถึง 82 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีการกระจายตัวของอนุภาคที่ดี และตัวยามีการออกฤทธิ์การต้านอาการอักเสบดีกว่าสินค้าที่ขายในท้องตลาดเกือบสองเท่า

## 2.10 วิธีการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน

### 2.10.1 Ultrasonication หรือ High speed homogenization

การเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนด้วยวิธี High speed homogenization เป็นเทคนิคที่ไม่เกี่ยวข้องกับตัวทำละลายอินทรีย์หรือสารเติมแต่งอื่นๆ เป็นเทคนิคที่ทำได้ง่ายและใช้เครื่องมือที่มีอยู่เกือบทุกห้องปฏิบัติการ ทำได้โดยห่อมละลายไขมันเหนือจุดหลอมเหลวประมาณ 5 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปกระจายในวัฏภาคน้ำซึ่งมีตัวทำอิมัลชันละลายอยู่ โดยวัฏภาคน้ำต้องทำให้ร้อนก่อนประมาณ 70 องศาเซลเซียส แล้วนำไปโฮโมจีไนซ์ที่ความเร็วสูง หลังจากนั้นนำไป โฮโมจีไนซ์ด้วยเครื่อง High pressure homogenization หรือใช้ Ultrasonic probe เมื่อนำสารละลายนาโนอิมัลชันไปทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จะได้สารละลายตัวพาไขมันระดับนาโน วิธีนี้มีข้อเสียคือให้การกระจายตัวของอนุภาคต่ำและอนุภาคมีขนาดใหญ่ระดับไมโครเมตร และมีความคงตัวทางกายภาพต่ำเมื่อผ่านระยะเวลาการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารลดแรงตึงผิวสูง และมีการปนเปื้อนของโลหะ [24, 25]

### 2.10.2 High pressure homogenization

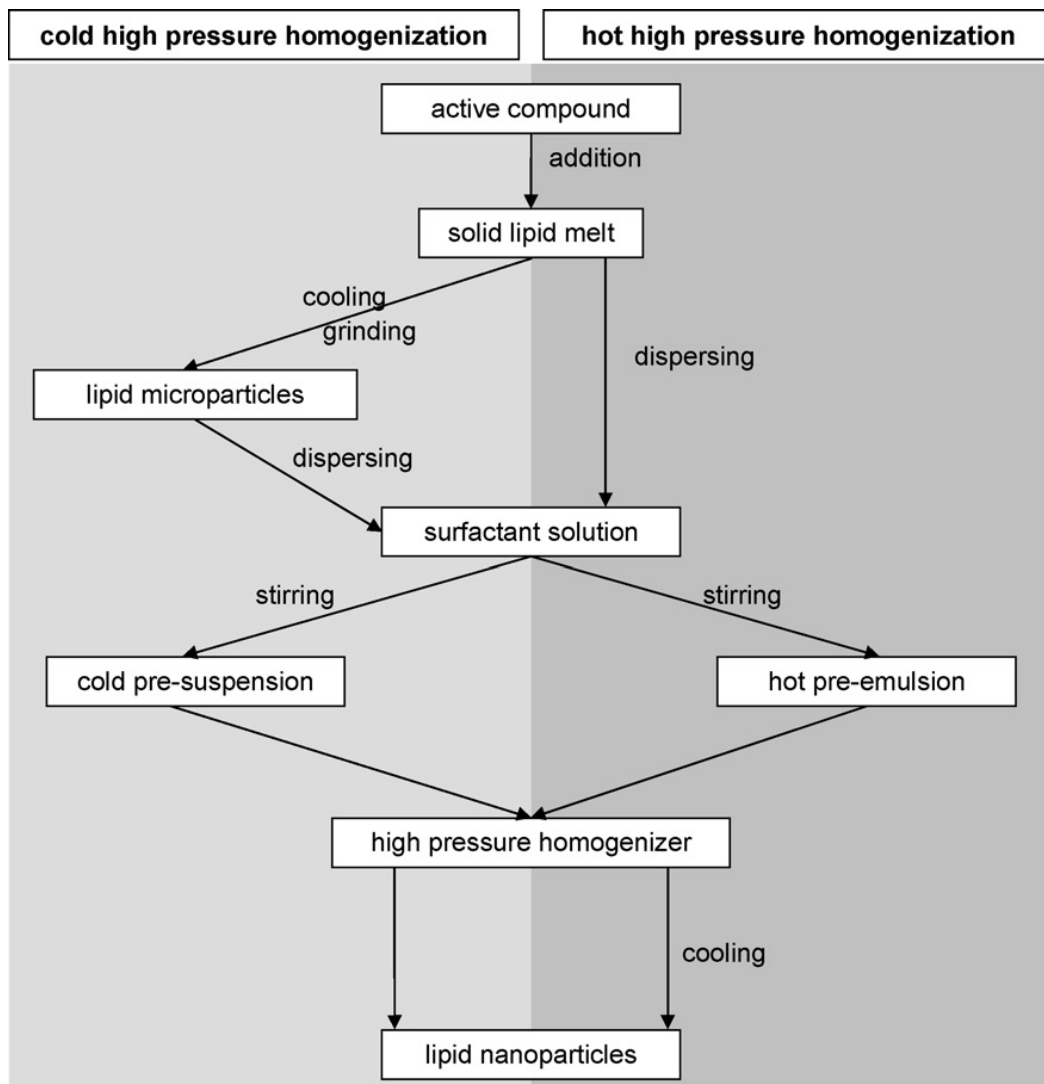
สำหรับการเตรียมอนุภาคไขมันระดับนาโนเมตร มีเทคนิคพื้นฐาน 2 วิธีด้วยกัน ได้แก่ Hot homogenization technique และ Cold homogenization technique โดยข้อดีของเทคนิคทั้ง 2 คือมีการกระจายขนาดอนุภาคแคบ อนุภาคที่ได้มีขนาดไมโครเมตรในปริมาณต่ำ มีปริมาณไขมันใน dispersions สูง หลีกเลี่ยงการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ มีความเป็นไปและความพร้อมในการผลิตในระดับอุตสาหกรรม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดของ เครื่อง Homogenizers ที่ใช้ โดยมีช่วงการผลิตที่กว้างคือตั้งแต่ 500 ถึง 60,000 ลิตรต่อชั่วโมง

### 2.10.3 Hot high pressure homogenization technique

เตรียมได้โดยละลายตัวยาหรือสารสำคัญลงในไขมันที่ถูกห่อมเหลวด้วยอุณหภูมิเหนือกว่าจุดหลอมเหลวของไขมันประมาณ 5-10 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารละลายในวัฏภาคไขมันไปกระจายในวัฏภาคน้ำร้อนที่มีสารลดแรงตึงผิวละลายอยู่ จากนั้นนำไปโฮโมจีไนซ์ด้วยความเร็วสูง จะได้อิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคใหญ่อยู่ แล้วนำไป ผ่านเครื่องโฮโมจีไนซ์ความดันสูง (100-1500 บาร์) โดยจะทำประมาณ 1-3 รอบ เพื่อให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องหรือต่ำกว่า สารละลายจะตกผลึกเป็นตัวพาไขมันระดับนาโนเมตร วิธีนี้จะเหมาะกับตัวยาหรือสารสำคัญที่ละลายในไขมัน (Lipophilic drugs) และตัวยาที่ไม่ชอบน้ำ ไม่เหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับตัวยาที่ละลายน้ำ เนื่องจากจะมีประสิทธิภาพในการกักเก็บตัวยาที่ต่ำ [26]

#### 2.10.4 Cold high pressure homogenization technique

วิธีนี้มีความเหมาะสมมากขึ้นสำหรับตัวยาที่ชอบน้ำ (Hydrophilic drugs) ในการเตรียมจะผสมตัวยารวมกับไขมันที่ถูกหลอมเหลว ถ้าตัวยามีความสามารถในการละลายในไขมันต่ำมาก สารลดแรงตึงผิวจะเป็นตัวช่วยให้ทั้งสองอย่างผสมกันได้ สารผสมจะถูกทำให้เป็นของแข็งด้วยน้ำแข็งแห้งหรือนิโตรเจนเหลว เพิ่มความเปราะให้ไขมันเพื่อสะดวกในขั้นตอนการบด (บดด้วยเครื่อง Molar mill) อนุภาคขนาดไมโคร (ประมาณ 50-100 ไมโครเมตร) ที่ได้จะนำไปกระจายในสารละลายลดแรงตึงผิว จากนั้นจะนำสารละลายคอลลอยด์นี้ไปโฮโมจีไนซ์ ที่อุณหภูมิห้องหรือต่ำกว่า วิธีนี้จึงเหมาะสมกับตัวยาที่ไวต่อความร้อน เนื่องจากตัวยามีเวลาในการสัมผัสความร้อนต่ำ [26]



รูปที่ 2.7 กระบวนการในการเตรียมอนุภาคนาโนไขมันด้วยวิธี

Hot high pressure homogenization technique (ขวามือ) และ  
Cold high pressure homogenization technique (ซ้ายมือ) [27]

### 2.10.5 Preparation via o/w microemulsion

การผลิตอนุภาคนาโนไขมัน ผ่านการตกตะกอนของหยดไขมันขนาดไมโครเมตร โดยการทำให้ไขมันละลายในน้ำที่มีขนาดเล็ก วิธีนี้ได้รับการพัฒนาและนำมาใช้โดย Gasco การก่อตัวของอนุภาคนาโนไขมันเกิดขึ้นโดยการกระจาย ไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w emulsion) ที่ผ่านการให้ความร้อนมากระจายในเป็นวัฏภาคน้ำเย็นภายใต้การกวน อนุภาคนาโนไขมัน ทำได้จากการเตรียมวัฏภาคน้ำมันและวัฏภาคน้ำแยกกัน โดยละลายไขมันที่อุณหภูมิที่แน่นอน และให้ความร้อนกับ วัฏภาคน้ำที่มีสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม ที่อุณหภูมิเดียวกัน หลังจากนั้นกระจายวัฏภาคน้ำมันลงในวัฏภาคน้ำ ภายใต้การกวนอย่างต่อเนื่อง แล้วนำอิมัลชันที่ได้ไปทำให้เย็นในน้ำเย็น (2-3 องศาเซลเซียส) โดยต้องกวนอย่างต่อเนื่องเพื่อรักษาขนาดอนุภาคให้มีขนาดเล็ก เนื่องจากการตกตะกอน โดยอัตราส่วนของไมโครอิมัลชันร้อนต่อน้ำเย็นอยู่ในช่วง 1:25 ถึง 1:50 โดยไขมันที่มีจุดหลอมเหลวต่ำจะเหมาะสำหรับการเตรียมด้วยวิธีนี้ เช่น กรดสเตียริกและ Imwitor 900 เป็นต้น [25]



### 2.10.6 Solvent diffusion method

สำหรับการผลิตตัวพาไขมันระดับนาโนชนิด SLN หรือ NLC ด้วยวิธีนี้ เป็นการเตรียมสารละลายอิมัลชัน ชนิดน้ำมันในน้ำ (Oil in water) โดยไขมันหรือน้ำมันจะถูกละลายในสารละลายอินทรีย์ (Cyclohexane) แล้วนำไปกระจายในวัฏภาคน้ำที่มีตัวทำอิมัลชัน (emulsifier) ละลายอยู่ ซึ่งตัวยาหรือสารสำคัญสามารถใช้ได้ทั้งชนิดที่ละลายน้ำและละลายไขมัน ถ้าตัวยาที่ละลายน้ำก็จะละลายตัวยา รวมไปถึงในวัฏภาคน้ำ แต่ถ้าตัวยาชอบไขมันก็จะละลายตัวยาไปในวัฏภาคไขมัน เมื่อให้ความร้อนจนสารละลายอินทรีย์ระเหยออก จะเกิดการตกตะกอนของอนุภาคนาโนไขมันกระจายอยู่ในวัฏภาคน้ำ [28] โดยขนาดของอนุภาค NLC ที่เตรียมได้จะมีขนาดอยู่ในช่วง 164.4-429.2 นาโนเมตร [21] แต่ข้อเสียของวิธีนี้คือมีสารตกค้างของตัวทำละลาย และสำหรับการกักเก็บตัวยาหรือสารสำคัญที่ละลายได้ในไขมัน จะหลุดออกมาในระหว่างการเตรียม เนื่องจากตัวยาหรือสารสำคัญสามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ [22]

### 2.10.7 Melt-emulsification technique

การเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนชนิด SLN หรือ NLC ด้วยวิธีนี้ โดยการเตรียมสารละลายอนุภาคนาโนไขมัน เตรียมคล้ายกับวิธี Solvent diffusion method แต่วิธีนี้มีข้อดีคือจะไม่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ แต่ใช้การให้ความร้อน และลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งอนุภาคที่เตรียมได้จะมีขนาดใหญ่กว่าวิธีที่ใช้ตัวทำละลายเล็กน้อย คืออยู่ในช่วง 340.6-485.5 นาโนเมตร แต่มีค่าการกระจายตัวและค่าความคงตัวไม่ต่างกัน [22]

## 2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับเทคนิคการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน

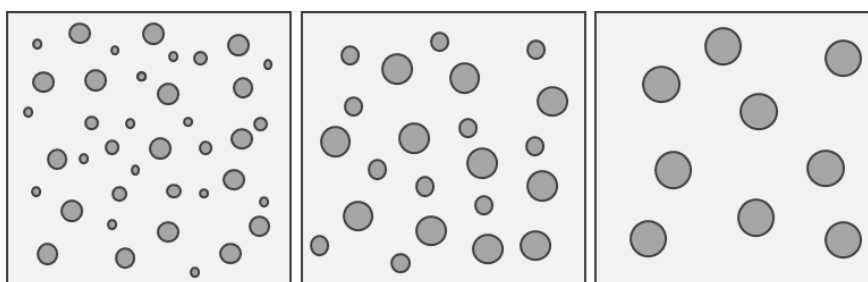
ตารางที่ 2.4 เทคนิคการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนและข้อดีของเสียต่างๆ

วิธีการเตรียม	ข้อดี	ข้อจำกัด/ข้อเสีย	อ้างอิง
High pressure homogenization (HPH)	-เป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลายและเป็นที่ยอมรับ -มีค่าใช้จ่ายไม่สูงและเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ -อนุภาคมีการกระจายตัวที่ดีและมีความคงตัวทางกายภาพสูง	-ไม่สามารถหลีกเลี่ยงตัวยาหรือสารสำคัญจากอุณหภูมิสูงได้ -ไม่เหมาะกับตัวยาหรือสารสำคัญที่ไม่ทนต่อความร้อน	Müller และคณะ (1996) [29]
High speed stirring and/or Ultrasonication	-ใช้เครื่องมือที่มีอยู่ในแล็บทั่วไป -มีแรงเฉือนสำหรับการผสมสูงเช่นการใช้ Probe sonicator	-มีช่วงการกระจายของขนาดอนุภาคที่กว้าง -อาจเกิดการปนเปื้อนของโลหะระหว่างการ sonicate ได้	Wissing และคณะ (2004) [30]
w/o/w double emulsion method	ป้องกันไม่ให้ตัวยาหรือสารที่ถูกห่อหุ้มหลุดออกไปอยู่ในวัฏภาคภายนอก	ขนาดอนุภาคที่เตรียมด้วยวิธีนี้ยังมีขนาดใหญ่คืออยู่ในช่วงไมโครเมตร	Wissing และคณะ (2004) [30]
Solvent diffusion method	-ไขมันจะละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่เข้ากันบางส่วน เช่น benzyl alcohol ,Tetrahydrofuran	-ต้องใช้เทคนิค Ultrafiltration หรือ lyophilisation techniques -ตัวทำละลายอินทรีย์อาจตกค้างอยู่	Trotta และคณะ (2003) [31]

วิธีการเตรียม (ต่อ)	ข้อดี	ข้อจำกัด/ข้อเสีย	อ้างอิง
Melt-emulsification technique	-ไม่ต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ จึงไม่มีสารตกค้าง -ไม่มีการปลดปล่อยตัวยาหรือสารสำคัญในตอนเริ่มต้น -สารละลายตัวพาไขมันระดับนาโนที่เตรียมได้มีความเข้มข้นของไขมันสูง	- ขนาดอนุภาคที่เตรียมได้จะใหญ่กว่าการเตรียมด้วยวิธี solvent diffusion	Yuan และคณะ (2007) [22]

## 2.12 การทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying หรือ lyophilization)

การรักษาความเสถียรทางด้านเคมีและทางกายภาพและรวมถึงการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลาย (เช่นไฮโดรไลซิส) และการรักษาขนาดอนุภาคเริ่มต้นให้คงไว้เท่าเดิม ดังนั้นจึงต้องการส่วนผสมที่ใช้ในการเตรียมอนุภาคที่มีเสถียรภาพที่เพียงพอและให้การกระจายของขนาดอนุภาคที่แคบเพื่อหลีกเลี่ยงการขยายใหญ่ของผลึกโดยปรากฏการณ์ออสวาล์ดริฟเพนนิ่ง (Ostwald ripening) (รูปที่ 2.8) และอนุภาคตัวพาไขมันควรทนต่อการเปลี่ยนแปลงความร้อนที่จะเกิดขึ้นระหว่างการขนส่ง ซึ่งมีการแสดงให้เห็นว่าอนุภาค SLN มีความเสถียรในสารละลายมากกว่า 12-36 เดือน อย่างไรก็ตามเสถียรภาพนี้ไม่ได้เป็นลักษณะทั่วไปของ SLN ในสารละลาย และในกรณีส่วนใหญ่จะสังเกตพบว่าการเพิ่มขึ้นของขนาดอนุภาคในช่วงระยะเวลาที่สั้น



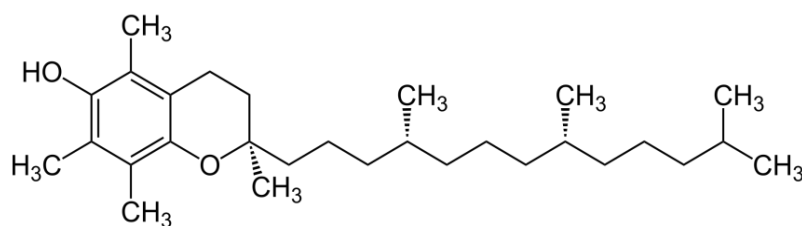
**รูปที่ 2.8** ปรากฏการณ์ออสวาล์ดริฟเพนนิ่ง (Ostwald ripening) เป็นกลไกการสลายตัวของอิมัลชันโดยน้ำ ไขมันแพร่ออกจากอนุภาคที่มีขนาดเล็กไปสู่อนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่า ทำให้อิมัลชันมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยโดยรวม เพิ่มขึ้นตามเวลา (ก) เป็นรูปอิมัลชันเมื่อเวลาเริ่มต้น (ข) และ (ค) เป็นอิมัลชันที่เก็บไว้ที่ระยะเวลาเพิ่มขึ้น ตามลำดับ (ดัดแปลงจาก สุวิมล และคณะ (2556) [32])

ดังนั้นวิธีการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง (lyophilization) เป็นวิธีที่มีแนวโน้มในการเพิ่มความคงตัวของ SLN ให้มีระยะเวลายาวนานขึ้น การเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปแบบที่เป็นของแข็งจะป้องกันไม่ให้เกิดปรากฏการณ์ออสวาร์ดริฟเพนนิ่ง (Ostwald ripening) และหลีกเลี่ยงการเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลาย (Hydrolysis) แต่ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลง 2 อย่างที่เพิ่มขึ้นมาก็อาจเป็นปัญหาของความคงตัวของอนุภาค อย่างแรกคือการเปลี่ยนจากการกระจายตัวอยู่ในวัฏภาคน้ำมาอยู่ในรูปของแข็ง ซึ่งเป็นปัญหาจากการแช่แห้งและระเหยน้ำให้แห้งภายใต้ระบบสุญญากาศ โดยการแช่แข็งอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อความคงตัวของอนุภาคเนื่องจากการแช่แข็งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารที่อยู่ในสารละลาย (osmolarity) และค่าพีเอช การเปลี่ยนแปลงอย่างที่สองคือ resolubilization อย่างน้อยก็เกี่ยวข้องในระยะเวลาเริ่มต้น ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมหรือส่งเสริมให้เกิดการรวมตัวของอนุภาค คือสภาวะที่มีปริมาณน้ำต่ำ ปริมาณอนุภาคสูง และแรงดันสูง

Mehnert และ Mäder (2001) [33] รายงานว่าเพื่อป้องกันผลกระทบของสารลดแรงตึงผิวที่อาจถูกทำลายโดยการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง การศึกษาต่อมาจึงพบว่าการกระจายตัวของอนุภาคในสารละลายไม่ควรเกิน 5 เปอร์เซ็นต์ เพื่อป้องกันไม่ให้อนุภาคมีขนาดเพิ่มขึ้น โดยการลดการสัมผัสกันของอนุภาคด้วยการเจือจาง นอกจากนี้การเจือจางยังทำให้ความเร็วเกิดการระเหิดสูงขึ้นและพื้นที่ผิวจำเพาะสูงขึ้น

### 2.13 แอลฟาโทโคฟีรอล ( $\alpha$ -tocopherol)

แอลฟาโทโคฟีรอล ( $\alpha$ -tocopherol) หรือวิตามินอี (Vitamin E) มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง และละลายได้ดีในไขมันธรรมชาติ วิตามินอีจะอยู่ในรูปโทโคฟีรอล โดยตำแหน่งแอลฟาโทโคฟีรอลจะให้คุณสมบัติทางชีววิทยาสูงสุด เมื่อเทียบกับเบต้า แกมมา และเดลต้า คือมีประสิทธิภาพสูงสุด มีน้ำหนักโมเลกุล 430.71 กรัมต่อโมล มีสูตรโมเลกุลคือ  $C_{29}H_{50}O_2$  มีชื่อเฉพาะว่า โทโคฟีรอล (Tocopherol) ซึ่งรูปโทโคฟีรอลนี้มีโครงสร้างแตกต่างกันประมาณ 6 แบบ ที่ออกฤทธิ์ดีที่สุดคือ แอลฟาโทโคฟีรอล โครงสร้างของแอลฟาโทโคฟีรอลแสดงดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 โครงสร้างของแอลฟาโทโคฟีรอล ( $\alpha$ -tocopherol)



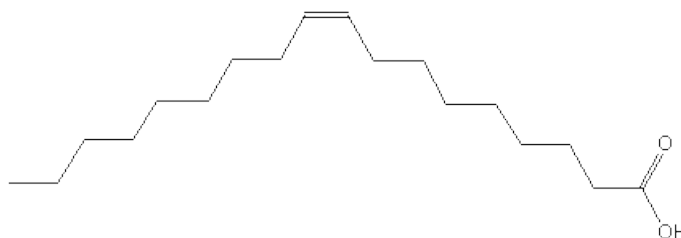
วิตามินอีสามารถละลายได้ในไขมัน ช่วยในการทำงานของระบบต่างๆภายในร่างกายหลายระบบ และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยให้เซลล์ต่างๆ รอดพ้นอันตรายจากสารพิษ ทำให้เกิดการเผาผลาญโดยมีออกซิเจนเป็นตัวการสำคัญทำให้ร่างกายเผาผลาญได้ดี ในคนวิตามินอีมีความสำคัญต่อสุขภาพ เป็นสารที่ป้องกันไม่ให้วิตามินเอ แคโรทีน และกรดไขมันไม่อิ่มตัวถูกออกซิเดชัน จึงเป็นวิตามินที่ช่วยลดปริมาณของคอเลสเตอรอลในเลือด ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ

สำหรับผิวหนัง วิตามินอี (vitamin E) เป็นตัวยับยั้งรังสี UVB ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นำไปสู่การลดอัตราการเกิดมะเร็งผิวหนัง (photocarcinogenesis) และลดอัตราการที่ DNA จะถูกทำลายจากแสงแดด ช่วยชะลอความแก่ของผิวหนัง ทำให้ผิวสดใส ช่วยป้องกัน ยืดเวลาและยับยั้งการเสื่อมของสภาพผิว ช่วยชะลอความแก่ ช่วยลดการเกิดริ้วรอย วิตามินที่เป็นส่วนผสมในครีมและโลชั่นทาผิว จะช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิว ซึ่งเป็นคุณสมบัติตามธรรมชาติของวิตามินเอง ดังนั้นโทโคฟีรอลหรือวิตามินอีจึงถูกนำมาใช้ในยาและเครื่องสำอางมาเป็นเวลานาน [34]

#### 2.14 กรดโอเลอิก (Oleic acid)

กรดโอเลอิกเป็นกรดไขมันที่เป็นของเหลว เกิดขึ้นตามธรรมชาติในไขมันและน้ำมันจากสัตว์และพืช ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น แม้ว่ากรดโอเลอิกในเชิงพาณิชย์อาจจะมีสีค่อนข้างเหลือง กรดโอเลอิกถูกจัดประเภทเป็นกรดไขมันโอเมก้า 6 เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว มีสูตรโครงสร้างคือ  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$  ในด้านเครื่องสำอางมีการนำกรดโอเลอิกไปประยุกต์เป็นส่วนประกอบในการผลิตโลชั่นสำหรับผิว และผม [35]

ซึ่งกรดโอเลอิกจะช่วยบำรุงผิวให้นุ่ม ชุ่มชื้น ปกป้องผิวจากแสงแดด สำหรับเส้นผม กรดโอเลอิกจะช่วยปกป้องเส้นผมจากการหิวผมและถูกทำลายจากความร้อนและแสงแดด โดยกรดโอเลอิกที่เป็นองค์ประกอบในไขมันเงาเป็นกรดโอเลอิกชนิด cis-9-oleic acid(C18:19c) มีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 โครงสร้างของกรดโอเลอิก (Oleic acid)

## การนำโอลิโกมาใช้ในการเตรียมตัวพาไขมัน

งานวิจัยของ Borgia และคณะ (2005) [36] การเตรียมอนุภาค NLC จากกรดโอเลอิก ร่วมกับคอมพริทอล 888 (Compritol 888) และพรีซิรอล (Precirol®ATO 5 หรือ glyceryl palmitostearate) เป็นตัวกักเก็บ Nile red ซึ่งเป็นตัวแทนของตัวยาที่ละลายได้ในน้ำมัน ด้วยวิธี high pressure homogenization เนื่องจากในการรักษาโรคทางผิวหนังมีความต้องการให้ตัวยาสามารถดูดซึมได้สูงและเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเข้าสู่อวัยวะเป้าหมาย เพราะฉะนั้นขนาดอนุภาคและความคงตัวของอนุภาคที่เตรียมได้จึงเป็นสิ่งที่สำคัญ โดยพบว่าในวันที่ 3 อนุภาค NLC ที่เตรียมได้จาก กรดโอเลอิกร่วมกับคอมพริทอล 888 มีขนาด 236 นาโนเมตรและมีค่าการกระจายตัวของอนุภาค (Polydispersity index, PI) เท่ากับ 0.303 เมื่อเวลาผ่านไปในวันที่ 82 สารละลายของอนุภาคมีลักษณะเป็นเจล ส่วนอนุภาคที่เตรียมได้จากกรดโอเลอิกร่วมกับพรีซิรอล ขนาดอนุภาคในวันที่ 3 เท่ากับ 153 นาโนเมตร และมีค่า PI เท่ากับ 0.157 เมื่อผ่านระยะเวลาการเก็บรักษาพบว่าในวันที่ 82 ขนาดอนุภาคเท่ากับ 154 และค่า PI เท่ากับ 0.118 ซึ่งจะเห็นว่าการเตรียมอนุภาค NLC โดยใช้ กรดโอเลอิกร่วมกับพรีซิรอล มีความคงตัวและการกระจายตัวที่ดีกว่า และเมื่อทำการเปลี่ยนชนิดไขมันชนิดเหลวจากกรดโอเลอิกเป็น ไมกลีโอล (Miglyol) พบว่าอนุภาคที่เตรียมด้วยไมกลีโอลมีขนาดที่ใหญ่กว่าคือ 162 นาโนเมตร และเมื่อผ่านระยะเวลาการเก็บรักษาขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นเป็น 199 นาโนเมตร

ในงานวิจัยที่ผ่านมาของ Yuan และคณะ (2007) [22] มีการนำกรดโอเลอิกไปใช้ในการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนชนิด NLC เป็นตัวห่อหุ้มฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน (Progesterone) ร่วมกับกรดสเตียริกและโมโนสเตียรีน ด้วยวิธี Melt-emulsification technique เพื่อให้ฮอร์โมนออกฤทธิ์ได้ดีขึ้น โดยจากการเพิ่มความเข้มข้นของกรดโอเลอิกขึ้นจาก 5-20 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นจาก 408.4-439.7 นาโนเมตร ซึ่งเพิ่มการกักเก็บตัวยาคือขึ้นเช่นกัน โดยการกระจายตัวและความคงตัวที่ดูได้จากค่า Polydispersity index (PI) และค่า Zeta potential พบว่าอนุภาคที่เตรียมได้มีการกระจายตัวและความคงตัวทางกายภาพที่ดี นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณกรดโอเลอิกเพิ่มขึ้นจะให้อัตราการปลดปล่อยฮอร์โมนเพิ่มขึ้น เนื่องจากตัวยาสามารถแพร่ผ่านผิวหนังของไขมันเหลวได้ดีกว่าแพร่ผ่านไขมันแข็ง

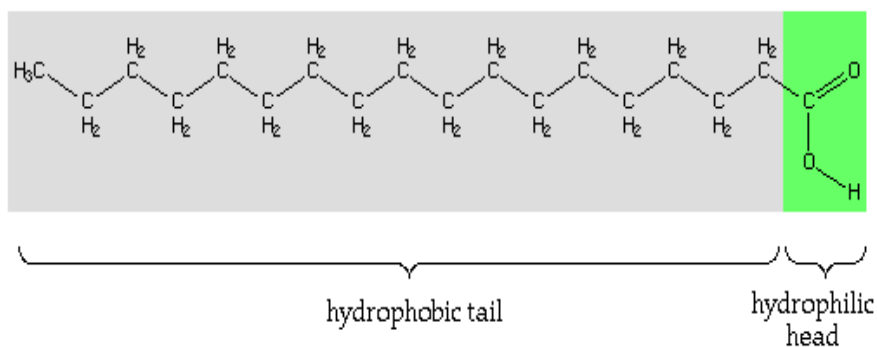
## 2.15 กรดไขมันที่ใช้ในการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน

### 2.15.1 กรดสเตียริก (Stearic acid)

กรดสเตียริกเป็นกรดไขมันอิ่มตัว เกิดจากการผสมกันของกรดไขมันอิ่มตัวสำคัญๆ ได้แก่ กรดสเตียริก (Octadecanoic) และกรดปาล์มมิติก (Hexadecanoic หรือ Palmitic Acid)

โมเลกุลของสเตียริกแอซิดเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่อะตอมของคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนต่อกันเป็นสายโซ่ยาว มีสูตรโครงสร้างเป็น  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)\text{COOH}$  ประกอบด้วยส่วนหางเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic tail) และส่วนหัวเป็นส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic head) ได้แก่หมู่คาร์บอกซิลิกทำหน้าที่เป็นหมู่ฟังก์ชัน แสดงดังรูปที่ 2.11 กรดสเตียริกมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว มันเงา มีกลิ่นหืนของไขมัน ไม่ละลายน้ำ แต่สามารถละลายได้ดีในแอลกอฮอล์และอีเธอร์มีจุดหลอมเหลวที่ 70 องศาเซลเซียส และจุดเดือดที่ 383 องศาเซลเซียส

กรดสเตียริกเป็นที่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ในการทำยา และเครื่องสำอาง เนื่องจากกรดสเตียริกเกิดจากไขมันหรือน้ำมันจากพืชและสัตว์จึงค่อนข้างปลอดภัย มักนำมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกาย โลชั่น ครีมรองพื้น และสบู่ มีคุณสมบัติช่วยสร้างความนุ่มนวล ลื่น เป็นประกายแวววาว รวมทั้งการนำไปใช้ในการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนเมตรที่เป็นตัวกักเก็บสารสำคัญ ที่ใช้ทางด้านการแพทย์และเครื่องสำอางอีกด้วย



รูปที่ 2.11 โครงสร้างของกรดสเตียริก (Stearic acid)

ในงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการนำกรดสเตียริกมาเป็นตัวห่อหุ้มสารสำคัญต่างๆ ได้แก่งานวิจัยของ Hu และคณะ ในปี 2005 ได้ทำการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนทั้งชนิด SLN และ NLC โดยใช้กรดไขมันสเตียริกร่วมกับกรดโอเลอิกสำหรับการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนชนิด NLC ด้วยวิธี solvent diffusion method พบว่าอนุภาคที่เตรียมได้มีขนาดอยู่ระหว่าง 151.6-397.3 นาโนเมตร และมีการกระจายรวมถึงความคงตัวของทางกายภาพดี ซึ่งดูได้จากค่า PI และค่าศักย์ภาพซีต้า (Zeta potential)

และในงานวิจัยของ Hu และคณะ (2005) และของ Yuan และคณะ (2007) [21, 22] ที่ใช้กรดไขมันสเตียริกร่วมกับโมโนสเตียรีนสำหรับการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนชนิด SLN พบว่า ตัวพาไขมันระดับนาโนที่เตรียมได้ ให้ค่าการกระจายตัวและความคงตัวของอนุภาคที่ดีโดยพิจารณาจากค่า PI ที่ไม่เกิน 0.3 และค่า ZP ที่น้อยกว่า -30 มิลลิโวลต์

### 2.15.2 ซิทิลแอลกอฮอล์ (Cetyl alcohol)

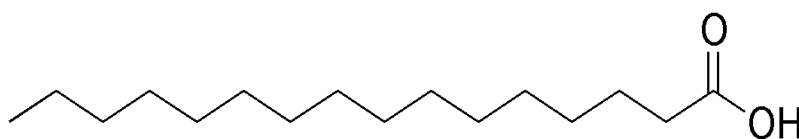
ซิทิลแอลกอฮอล์ (Cetyl alcohol) หรือที่รู้จักกันในชื่อ 1-hexadecanol และ palmityl alcohol เป็น fatty alcohol มีสูตรโครงสร้างทางเคมีคือ  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{OH}$  ที่อุณหภูมิห้องจะมีลักษณะเป็นผงหรือเม็ดสีขาว มีกลิ่นอ่อนๆ มีจุดหลอมเหลวที่ 46-52 องศาเซลเซียส ไม่สามารถละลายได้ในน้ำมัน โดยต้องละลายให้เป็นของเหลวก่อน ใช้เพิ่มความเสถียรของ emulsion ช่วยเพิ่มความหนืดให้แก่เนื้อครีมหรือโลชั่น นอกจากนี้มีคุณสมบัติเป็น emollient ในตัว จึงเหมาะกับผลิตภัณฑ์ที่เป็น moisturizer เนื่องจากจะเพิ่มความเนียนนุ่มให้กับผิว ในงานด้านเครื่องสำอางที่ผ่านมามีการนำ ซิทิลแอลกอฮอล์ ไปใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตโฟมหรือครีมป้องกันผิวจากแสงแดด [37]



รูปที่ 2.12 โครงสร้างของซิทิลแอลกอฮอล์ (Cetyl alcohol)

### 2.15.3 กรดปาล์มมิติก (Palmitic acid)

กรดปาล์มมิติก (Palmitic acid) หรือ hexadecanoic acid เป็นกรดไขมันอิ่มตัว ที่ได้จากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ มีสูตรโครงสร้างทางเคมีคือ  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$  มีจุดหลอมเหลว 63 องศาเซลเซียส เป็นส่วนประกอบหลักในน้ำมันปาล์ม และพบได้ในเนื้อสัตว์ ชีส บัตเตอร์ และผลิตภัณฑ์นม



รูปที่ 2.13 โครงสร้างของกรดปาล์มมิติก (Palmitic acid)

ในงานวิจัยของ Carlotti และคณะ (2005) [38] ศึกษาการเตรียมอนุภาคนาโนไขมันแข็ง (SLN) ในการกักเก็บวิตามินเอ (Retinyl palmitate) ที่เป็นสารที่สามารถละลายได้ในไขมัน เพื่อลดการสลายตัวของวิตามินเอ โดยวิตามินเอที่ไม่ได้ถูกกักเก็บในอนุภาคไขมัน มีการสลายตัวเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 25 และ 40 องศาเซลเซียส เป็น 93 และ 97 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่าวิตามินเอที่

ถูกกักเก็บในอนุภาค SLN ที่เตรียมจากกรดปาล์มมิติก (Palmitic acid) สามารถลดการสลายตัวของวิตามินเอได้ดีกว่า เมื่อเทียบกับวิตามินเอที่กักเก็บในซีทิลปาล์มมิเตต (cetyl palmitate) คือวิตามินเอสลายตัวไปเมื่อผ่านระยะเวลาการกักเก็บที่อุณหภูมิ 25 และ 40 องศาเซลเซียส เพียง 12 และ 16 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการกักเก็บในกลีเซอริลเบเฮเนต (glyceryl behenate) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อวิตามินเอที่อยู่ในรูปอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำและวิตามินเอที่กักเก็บในอนุภาค SLN ถูกรังสี UVA และ UVB เป็นเวลา 120 นาที วิตามินเอที่อยู่ในอิมัลชันสลายตัวไป 92 และ 82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ วิตามินเอที่ถูกกักเก็บในกรดปาล์มมิติก สลายตัวไป 34 และ 28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งการสลายตัวของวิตามินเอน้อยกว่าการกักเก็บในกลีเซอริลเบเฮเนต

## 2.16 ลักษณะทางกายภาพของตัวพาไขมันระดับนาโน

### 2.16.1 ขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของอนุภาค

การวัดขนาดอนุภาคของตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตรจะนิยมวัดโดยใช้เครื่อง Zetasizer โดยข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ ได้แก่ ขนาดอนุภาค (Particle size) ดัชนีการกระจายตัว (Polydispersity index, PI) และค่าศักย์ภาพซีต้า (Zeta potential) ซึ่งขนาดอนุภาคเป็นตัวบ่งชี้ความคงตัวของอนุภาคนาโนไขมันที่ดี และใช้ในการระบุลักษณะของอนุภาคที่เตรียมได้ โดยระบบที่ดีต้องให้การกระจายตัวของขนาดอนุภาคอยู่ในช่วงแคบ และมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าระดับไมครอน (submicron) คือมีขนาดเล็กกว่า 1 ไมโครเมตร ขนาดอนุภาคที่ใหญ่ขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปจะเป็นตัวชี้วัดความไม่คงตัวทางกายภาพของอนุภาค โดยปัจจัยต่างจะถูกปรับเปลี่ยนและดัดแปลงเพื่อให้ได้อนุภาคที่มีคุณภาพสูงสุด โดยประเมินจากการวัดขนาดอนุภาค

ขนาดอนุภาคที่ใหญ่มักจะทำให้เกิดขึ้นในกระบวนการที่ใช้อุณหภูมิต่ำกว่า และเทคนิค Hot homogenization จะให้ขนาดอนุภาคที่มีขนาดเล็ก โดยทั่วไปมีขนาดต่ำกว่า 500 นาโนเมตรและมีการกระจายขนาดอนุภาคแคบเมื่อเทียบกับเทคนิค Cold homogenization นอกจากนี้การเตรียมด้วยวิธี Hot homogenization จะทำที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดหลอมเหลวของไขมัน จะให้ไขมันอ่อนตัวในระหว่างกระบวนการโฮโมจีไนซ์กับตัวยาที่ละลายน้ำ ทำให้การกระจายตัวของอนุภาคที่ดีและสม่ำเสมอมากกว่าเมื่อเทียบกับวิธี Cold homogenization [26]

### 2.16.2 ดัชนีการกระจายตัว (Polydispersity index, PI)

ค่าดัชนีการกระจายตัว (PI) มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 1 โดยค่าที่น้อยกว่า 0.3 แสดงถึงการกระจายตัวของขนาดอนุภาคอยู่ในช่วงแคบ ดังนั้นการวัดค่า PI เพื่อเป็นการยืนยันว่าขนาดอนุภาคในสารละลายมีขนาดเท่าๆ กันทั้งระบบ [39, 40]

Das และคณะ (2012) [41] รายงานว่า ชนิดของไขมันที่ใช้ในการเตรียมตัวพาชนิด SLN ชนิดของสารลดแรงตึงผิว ส่งผลให้ค่า PI ของระบบมีความแตกต่างกัน เวลาในการโซนิเคตเพิ่มขึ้นถึง 15 นาที ทำให้ค่า PI ลดลง แต่พบว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นมากกว่า 15 นาทีไม่ส่งผลต่อค่า PI และเมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้น ทำให้ค่า PI ลดลง เช่นเดียวกับการเพิ่มปริมาณยาตัวยาจาก 0 ถึง 0.75 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อปริมาณตัวยามากกว่า 0.75 เปอร์เซ็นต์

### 2.16.3 ค่าศักย์ภาพซีต้า (Zeta potential)

ค่าศักย์ภาพซีต้า (Zeta potential) เป็นตัวช่วยในการคาดการณ์เกี่ยวกับความคงตัวในการเก็บรักษาของสารละลายคอลลอยด์ โดยทั่วไปการรวมตัวของอนุภาคมีโอกาสน้อยที่จะเกิดขึ้นกับอนุภาคที่มีประจุ ที่มี Zeta potential (ZP) สูง เนื่องจากแรงผลักทางไฟฟ้า โดยทั่วไปค่า ZP ควรมากกว่า 30 มิลลิโวลต์ ถึงจะแสดงว่าอนุภาคมีความคงตัวทางกายภาพที่ดี อย่างไรก็ตามกฎนี้ไม่สามารถนำมาใช้อย่างเคร่งครัดสำหรับระบบที่มีสารเพิ่มความคงตัว เพราะการดูดซับสารเพิ่มความคงตัวจะลดค่า ZP เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงในระนาบเฉือนของอนุภาค โดยค่า ZP จะลดลงเมื่อมีการเพิ่มพลังงานจากแสงหรือความร้อน เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะไปเพิ่มพลังงานจลน์กับระบบ ทำให้เกิดการรวมตัวของอนุภาคและค่าศักย์ภาพซีต้าลดลง พลังงานดังกล่าวยังสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกของไขมันอีกด้วย เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกจึงทำให้ค่าประจุไฟฟ้าเปลี่ยนไป เหตุนี้การวัดค่าศักย์ภาพซีต้าจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่ง [39, 40]

### 2.17 ประสิทธิภาพการกักเก็บตัวยา (Drug entrapment efficiency)

ประสิทธิภาพการกักเก็บตัวยา (The drug entrapment efficiency,  $E_d$ ) และเปอร์เซ็นต์ของสารสำคัญที่ถูกกักเก็บ (drug loading,  $L$ ) ของตัวพาไขมันระดับนาโน คำนวณได้จากสูตรในสมการที่ (1) และ (2)

เมื่อ  $W_d$  คือ น้ำหนักของตัวยาหรือสารสำคัญที่เติมเข้าไปในระบบทั้งหมด

$W_s$  คือ น้ำหนักของตัวยาหรือสารสำคัญที่อยู่ในสารละลายส่วนใส

$W_L$  คือ น้ำหนักของไขมันทั้งหมด

โดยค่า  $W_s$  หาได้จากการนำสารละลายคอลลอยด์ของอนุภาคตัวพาไขมันมาปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเอาสารละลายส่วนใส (supernatant) ซึ่งวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญที่ไม่ถูกกักเก็บที่อยู่ในสารละลายส่วนใสมีด้วยกัน 2 วิธีที่นิยมใช้ ได้แก่ การวัดด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer และด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC)

$$E_e = \left( \frac{W_a - W_s}{W_a} \right) \times 100\% \quad (1)$$

$$L = \left( \frac{W_a - W_s}{W_a - W_s + W_L} \right) \times 100\% \quad (2)$$

จากงานวิจัยของ Souto และคณะ (2004) [42] หาปริมาณ clotrimazole ที่คงเหลืออยู่ในสารละลายส่วนใสด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 243 นาโนเมตรและในงานวิจัยของ Luo และคณะ (2011) [43] หาปริมาณวิตามินอีในสารละลายส่วนใส ด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 297 นาโนเมตร

## 2.18 ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัจจัยที่มีผลต่อขนาดตัวพาไขมันระดับนาโน มีดังนี้

- องค์ประกอบของสูตร ได้แก่ สารลดแรงตึงผิว สารเพิ่มความคงตัว โครงสร้างของไขมัน และตัวยาที่ใช้ร่วมกัน
- วิธีการผลิตและสภาวะต่างๆ เช่น เวลา อุณหภูมิ ความดัน จำนวน cycle อุปกรณ์ การฆ่าเชื้อ และการทำให้แห้ง (Freeze dry หรือ lyophilization)

### 2.18.1 ชนิดของไขมันแข็ง (Lipid)

ชนิดของไขมันแข็งที่ใช้มีผลต่อตัวพาไขมันระดับนาโนที่เตรียมได้ โดยจากงานวิจัยของ นิชิชิมา (2552) [44] ได้เปรียบเทียบชนิดของไขมันแข็งที่ใช้ในการเตรียม ได้แก่ ซีทิลปาล์มมิเตต (Cetyl palmitate) กลีเซอรอล โมโนสเตียเรต (Glyceryl monostearate) สเตียริล แอลกอฮอล์ (Stearyl alcohol) ซีทิลแอลกอฮอล์ (Cetyl alcohol) กรดสเตียริก (Stearic acid) และ กรดปาล์มมิติก (Palmitic acid) มาห่อหุ้มสารก่อก้อนที่ได้จากวานานางคำ พบว่าสารละลายตัวพาไขมันระดับนาโนที่เตรียมได้จากไขมันแข็ง 3 ชนิดแรก ได้แก่ ซีทิลปาล์มมิเตตกลีเซอรอล โมโนสเตียเรต และ สเตียริล แอลกอฮอล์ เกิดการตกตะกอน และฟิล์มด้านบนทำให้ไปสามารถผ่าน High pressure homogenization ได้ ส่วนอนุภาค SLN ที่เตรียมได้จากไขมัน 3 ชนิดหลัง ได้แก่ ซีทิลแอลกอฮอล์ (Cetyl alcohol) กรดสเตียริก (Stearic acid) และ กรดปาล์มมิติก (Palmitic acid) ให้อนุภาคนาโนที่มีขนาด  $957.33 \pm 12.66$ ,  $646.25 \pm 24.05$  และ  $743.67 \pm 8.50$  นาโนเมตร ตามลำดับ และค่าการกระจายตัวของอนุภาค SLN ที่เตรียมได้มีค่าอยู่ที่ประมาณ 0.4-0.5

และในงานวิจัยของ Xie และคณะ (2011) [45] ทำการเตรียมนอนุภาคนาโนไขมันแข็ง (SLN) ท่อหุ้มด้วยยา Enrofloxacin โดยใช้กรดไขมัน 3 ชนิด ได้แก่ กรดเตตระเดคาโนอิก (Tetradecanoic acid) กรดปาล์มมิติก (Palmitic acid) และ กรดสเตียริก (Stearic acid) ด้วยวิธีการ Ultrasonication และ Hot homogenization และ ผลการศึกษาพบว่าการใช้กรดสเตียริกให้ประสิทธิภาพการท่อหุ้มและความสามารถในการกักเก็บ Enrofloxacin ของอนุภาค SLN มากกว่ากรดปาล์มมิติกและกรดเตตระเดคาโนอิก ตามลำดับ นอกจากนี้การเตรียมด้วยกรดสเตียริก ให้ขนาดอนุภาคขนาดใหญ่กว่า ค่าดัชนีการกระจายตัว (polydispersity index) และศักย์ภาพซีตา (Zeta potential) สูงขึ้นเมื่อเทียบกับกรดไขมันอีก 2 ชนิด

### 2.18.2 อัตราส่วนของไขมันแข็งต่อไขมันเหลว

จากการศึกษาการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนชนิด NLC ที่เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนระหว่างกรดสเตียริกและกรดโอเลอิก ของ Hu (2005) [21] พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณไขมันเหลว (กรดโอเลอิก) จาก 5-30 เปอร์เซ็นต์ ขนาดของอนุภาคที่เตรียมได้จะมีขนาดเล็กลง จาก 397.3 เป็น 164.6 นาโนเมตร และการปลดปล่อยสารสำคัญยาวนานขึ้น เมื่อปริมาณของกรดโอเลอิกเพิ่มขึ้น

Das และคณะ (2012) [41] ได้ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนระหว่างไขมันแข็ง (Solid lipid, SL) ต่อไขมันเหลว (Liquid lipid, LL) ในการเตรียมตัวพาไขมันชนิด NLCs โดยแปรผันอัตราส่วน SL:LL ได้แก่ Compritol® 888ATO :Labrafac™ CC เป็น 5:0, 4:1, 3:2, 2.5:2.5, 2:3, 1:4 และ 0:5 (ตัวพาชนิด SLNs) ผลจากงานวิจัยพบว่าขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นตามร้อยละความเข้มข้นของไขมันเหลว NLCs ที่เตรียมได้จาก SL:LL ในอัตราส่วน 4:1 ให้ขนาดอนุภาคต่ำกว่าที่เตรียมด้วยอัตราส่วนอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ และ NLCs ที่เตรียมได้จากอัตราส่วน 2.5:2.5, 2:3 และ 1:4 มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่า SLNs อย่างมีนัยสำคัญ และเป็นที่น่าแปลกใจว่านาโนอิมัลชัน (เตรียมจากไขมันเหลวชนิดเดียว) ให้ขนาดอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราส่วนของไขมันแข็งต่อไขมันเหลวไม่มีผลต่อค่าดัชนีการกระจายตัวของขนาดอนุภาค (Polydispersity index, PI) และไม่มีความสัมพันธ์ที่เฉพาะเจาะจงระหว่างค่าศักย์ภาพซีตากับอัตราส่วนไขมันแข็งต่อไขมันเหลว รวมทั้งประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญของ NLCs ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่ออัตราส่วน SL:LL ต่างกัน

### 2.18.3 ชนิดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิว (Surfactant)

ในการเตรียมนอนุภาคนาโนอิมัลชันนิยมใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (non-ionic surfactant) คือไม่แตกตัวเป็นประจุเมื่อละลายน้ำ ได้แก่ Sorbitan esters (Span® ), Polysorbates (Tween® ), Poloxamer คุณสมบัติมีความเป็นพิษน้อยและ ระคายเคืองน้อยจึงใช้ได้ ทั้งในรูปแบบ



ยารับประทาน, ยาฉีด, ยาทาภายนอก สามารถนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ทางด้านยาอิมัลชันน้ำแบบรับประทาน, อาหารเสริม , ผงซักฟอก เป็นต้น [46]

### ตารางที่ 2.5 ค่า Hydrophile-lipophile balance (HLB) ของสารลดแรงตึงผิว

(<http://pharmcal.tripod.com/ch17.htm>)

ชนิดของสารลดแรงตึงผิว (Surfactant)	ค่า HLB
Sorbitan trioleate (Span <sup>®</sup> 85)	1.8
Sorbitan tristearate (Span <sup>®</sup> 65)	2.1
Sorbitan sesquioleate (Arlacel 83)	3.7
Sorbitan monooleate, N.F., (Span <sup>®</sup> 80)	4.3
Sorbitan monostearate, N.F., (Span <sup>®</sup> 60)	4.7
Sorbitan monopalmitate, N.F., (Span <sup>®</sup> 40)	6.7
Sorbitan monolaurate, N.F., (Span <sup>®</sup> 20)	8.6
Polyoxyethylene sorbitan tristearate (Tween <sup>®</sup> 65)	10.5
Polyoxyethylene sorbitan trioleate (Tween <sup>®</sup> 85)	11.0
Polyethylene glycol 400 monostearate	11.6
Polysorbate 60, N.F., (Tween <sup>®</sup> 60)	14.9
Polyoxyethylene monostearate (Myrj 49)	15.0
Polysorbate 80, N.F., (Tween <sup>®</sup> 80)	15.0
Polysorbate 40, N.F., (Tween <sup>®</sup> 40)	15.6
Polysorbate 20, N.F., (Tween <sup>®</sup> 20)	16.7

ชนิดของสารลดแรงตึงผิวมีผลต่อขนาดตัวพาไขมันระดับนาโนที่เตรียมได้ เนื่องจากไขมันแต่ละชนิดจะต้องการค่า HLB ต่างกัน โดยค่า HLB ของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิดดูได้จากตารางที่ 2.5 และในตารางที่ 2.6 จะยกตัวอย่างความต้องการค่า HLB ที่ต่างกันของไขมันที่ใช้ในการเตรียมอิมัลชันทั้งแบบชนิดน้ำในน้ำมันและชนิดน้ำมันในน้ำ และตารางที่ 2.7 แสดงค่า HLB ที่เหมาะสมกับการประยุกต์ใช้ในการเตรียมอิมัลชันแต่ละชนิด

ตารางที่ 2.6 ความต้องการค่า HLB ที่ต่างกันของไขมันแต่ละชนิด

ชนิดของไขมัน	ค่า HLB	
	อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน	อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ
Acid, Lauric	--	15-16
Acid, Oleic	--	17
Acid, Stearic	6	15
Alcohol, Cetyl	--	15
Alcohol, Lauryl	--	14
Alcohol, Stearyl	--	14
Lanolin, Anhydrous	8	10
Oil, Castor	6	14
Oil, Cottonseed	5	10
Oil, Mineral	5	12
Oil, Olive	6	14
Petrolatum	5	12
Wax, Beeswax	4	12
Wax, Paraffin	4	11

ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวมีอิทธิพลต่อขนาดอนุภาคอย่างมาก โดยพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้น อนุภาคจะมีขนาดเล็กลง [47, 48] และการลดความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวจะทำให้ความคงตัวของอนุภาคลดลง [49] ซึ่งในงานวิจัยที่ผ่านมาของ Yuan และคณะ (2008) [50] ที่ขึ้นรูปตัวพาไขมันชนิด NLC ด้วยโมโนสเตียรีนร่วมกับกรดโอเลอิก โดยใช้ tween80 ผสมกับ span 80 เป็นสารลดแรงตึงผิว แสดงให้เห็นว่าเมื่อค่า HLB เปลี่ยนไปจะทำให้ขนาดของอนุภาคเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย และเมื่อเปรียบเทียบที่ค่า HLB เท่ากัน จะเห็นได้ชัดเจนว่าเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะทำให้ขนาดของอนุภาคเล็กลง

และในการศึกษาของ Han และคณะ (2008) [51] ที่ทำการเตรียมตัวพาไขมันชนิด NLC ด้วยไขมัน Monostearin ร่วมกับ Miglyol®812 โดยเปรียบเทียบการใช้สารลดแรงตึงผิว 4 ชนิด ได้แก่ Lecithin (L) Sodium deoxycholate (SDC) Tween 80 (T) และ Poloxamer 188 (P) และใช้สารลดแรงตึงผิวผสมชนิด T+P ชนิด L+T+P และทั้ง 4 ชนิดร่วมกัน ที่คาดว่าจะมีผลต่อความคงตัวของ

กายภาพของอนุภาคที่เตรียมได้ พบว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดเดี่ยวๆ อนุภาคของตัวพาที่เตรียมได้ มีความคงตัวของกายภาพต่ำกว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดผสม โดยสารลดแรงตึงผิวที่รวมกัน 4 ชนิด ให้ความคงตัวของอนุภาคตัวในสารละลายมากที่สุดถึง 1 ปี ก่อนที่จะเกิดการแยกเฟส โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

**ตารางที่ 2.7** ค่า HLB ที่เหมาะสมกับการประยุกต์ใช้ในการเตรียมอิมัลชันแต่ละชนิด

ค่า HLB	การผสมเข้ากันได้在水里	การประยุกต์ใช้
1-4	ไม่เข้ากัน	การผสมน้ำมัน
3-6	เข้ากันได้ไม่ดี	อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน
6-8	มีลักษณะขุ่นเหมือนน้ำมันด้วยการกวน	wetting
8-10	มีลักษณะขุ่นแต่มีความคงตัว	Wetting + อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ
10-13	โปร่งแสง	อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ
>13	ใส	อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำและการทำให้สารละลายที่เข้ากันได้ยากผสมเข้ากัน

#### 2.18.4 เวลาในการโซนิเคท (Ultrasonication time)

เวลาในการโซนิเคทหลังจากการเตรียมอิมัลชันมีผลต่อขนาดอนุภาค จากรายงานของ Landfester และคณะ (1999) [52] โดยเพิ่มเวลาในการโซนิเคทจาก 0.5-20 นาที พบว่าที่เวลา 5, 10 และ 20 นาที ขนาดอนุภาคที่เตรียมได้ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งมีแนวโน้มแบบเดียวกันกับการรายงานของ Das และคณะ (2012) [41] ที่แปรผันเวลาโซนิเคทที่ 1-30 พบว่าที่เวลาหลังจาก 10 นาที ขนาดอนุภาคที่ได้ ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ นอกจากนี้เวลาในการโซนิเคทยังมีอิทธิพลต่อค่าดัชนีการกระจายตัว (Polydispersity index, PI) ของอนุภาคในสารละลาย โดยพบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการโซนิเคทเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่า PI ลดลง ซึ่งหมายถึงการกระจายตัวของอนุภาคดีขึ้น

#### 2.18.5 ปริมาณของตัวยาหรือสารสำคัญ (Drugs)

ปริมาณของสารสำคัญที่ใส่เข้าไป ต้องเหมาะสมกับปริมาณไขมันที่ใช้ในการห่อหุ้ม หากตัวสารสำคัญมีปริมาณมากเกินไป ไขมันก็จะไม่สามารถกักเก็บตัวสารสำคัญได้เหมาะสม ทำให้ตัวสารสำคัญที่ใส่เข้าไปเหลืออยู่ข้างนอกอนุภาค เพื่อไม่ให้เป็นการสิ้นเปลือง การหาจุดที่เหมาะสม จึงเป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่ง จากงานวิจัยของ Yuan และคณะ (2007) [22] ที่ทำการเตรียมอนุภาคนาโนไขมัน

ชนิด NLCs จากกรดสเตียริกพร้อมกับโมนอสเตียเรต และกรดโอเลอิก ห่อหุ้มฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Progesterone) โดยพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณโปรเจสเตอโรนในตัวพาไขมันระดับนาโนพบว่า ประสิทธิภาพในการกักเก็บจะลดลง ขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้น และความคงตัวของอนุภาคลดลงเมื่อ ปริมาณของตัวยาเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราการปลดปล่อยตัวยาเร็วขึ้นเมื่อปริมาณกรดโอเลอิก เพิ่มขึ้น เนื่องจากตัวยาสามารถแทรกตัวผ่านไขมันชนิดเหลวได้ดีกว่าไขมันแข็ง



## บทที่ 3

### อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 วัสดุดิบ

- 3.1.1 เมล็ดเงาะพันธุ์โรงเรียน (บริษัท มาลีสามพราน จำกัด มหาชน, ประเทศไทย)

#### 3.2 สารเคมีและอุปกรณ์

- 3.2.1 สารเคมีสำหรับสกัดไขมันเงาะ
  - 3.2.1.1 เมล็ดเงาะ (โรงงานมาลีสามพราน, นครปฐม)
  - 3.2.1.2 เฮกเซน (Hexane)
- 3.2.2 สารเคมีสำหรับการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน
  - 3.2.2.1 กรดสเตียริก (stearic acid)
  - 3.2.2.2 ซิทิลแอลกอฮอล์ (Cetyl alcohol)
  - 3.2.2.3 กรดปาล์มมิติก (Palmitic acid)
  - 3.2.2.4 ไขมันเงาะ
  - 3.2.2.5 Tween 20
  - 3.2.2.6 Tween 80
  - 3.2.2.7 Poloxamer 188
  - 3.2.2.8 วิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol)
  - 3.2.2.9 สารสกัดจากเมล็ดมะม่วง

สารเคมีในข้อ 3.2.2.1-3.2.2.7 จากบริษัท วันรัต (หน้าเขียง) จำกัด
- 3.2.3 อุปกรณ์สำหรับสกัดไขมันเงาะ
  - 3.2.3.1 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
  - 3.2.3.2 เครื่องปั่นละเอียด (Blender)
  - 3.2.3.3 เครื่องเขย่าตะแกรงร่อน (Sieve Shakers)

- 3.2.3.4 เครื่องชั่ง (Electronic analytical balance)
- 3.2.3.5 เครื่องกวนสาร (Hot plate)
- 3.2.3.6 แมกเนติกบาร์ (Magnetic bar)
- 3.2.3.7 กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman filter papers)
- 3.2.3.8 กรวยกรองบุชเนอร์ (Buchner funnel)
- 3.2.3.9 ขวดก้นกลม (Round bottom flask)
- 3.2.3.10 ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump)
- 3.2.3.11 เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator)

### 3.2.4 อุปกรณ์สำหรับเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน

- 3.2.4.1 ปีกเกอร์ (Beaker)
- 3.2.4.2 ขวดแก้ว
- 3.2.4.3 แมกเนติกบาร์ (Magnetic bar)
- 3.2.4.4 Ultrasonic Probe
- 3.2.4.5 PVDF syringe filter ขนาด 0.45  $\mu\text{m}$
- 3.2.4.6 Syringe

### 3.3 เครื่องมือ

ตารางที่ 3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือ	รุ่น	ผู้ผลิต
ตู้อบ (Hot Air Oven)	ULM 500	Memmert, Germany
เครื่องกวนสาร (Hot plate)	RW 20 ZM.n.	lkalabortechnik, Germany
เครื่องปั่นละเอียด	HR 2108	Philips ,China
เครื่องเขย่าตะแกรงร่อน (Sieve Shakers)	FRI_18002	Industriestrasse8,55743Idar- Oberstein, Germany
ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump)	A-3S	Tokyo RikakikaiCO.,LTD.,Japan
เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator)	MPC 105 T	ILMVAC GmbH, Germany
เครื่องชั่ง (electronic analytical balance)	PB303-S/FACT	Mettler Toledo, Switzerland
ตู้แช่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส		Sanyo, Japan
Ultrasonic Probe	VCX 750	Sonic & Materials, USA
Lyophilizers / Freeze dryers	FreeZone 4.5	Labconco, U.S.A.
เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)	UV-2450	Mettler Toledo, Switzerland
เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)	5424/5424 R	Eppendorf International, U.S.A.

### 3.4 วิธีดำเนินงานวิจัย

#### 3.4.1 การเตรียมวัตถุดิบก่อนการสกัด

นำเมล็ดเงาะ ที่ได้จากโรงงานเงาะกระป๋อง (บริษัทมาลีสามพราน, นครปฐม) มาล้างทำความสะอาดและปอกเปลือกหุ้มเมล็ดออก จากนั้นนำไปบดหยาบ แล้วนำไปอบแห้งโดยใช้ตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนกระทั่งวัตถุดิบมีความประมาณความชื้นร้อยละ 5-10 โดยน้ำหนัก แล้วเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์ต่อไป

#### 3.4.2 การศึกษาการสกัดไขมันเงาะ

ทำการสกัดไขมันดิบจากเมล็ดเงาะด้วยวิธีสกัดแบบหมัก (Maceration extraction) โดยนำผงเมล็ดเงาะไปอบเพื่อปรับความชื้นให้มีปริมาณร้อยละ 5-10 โดยน้ำหนัก นำไปสกัดไขมันด้วยวิธีแบบหมัก (Maceration extraction) โดยชั่งตัวอย่างปริมาณ 20 กรัม สกัดด้วยสารละลายเฮกเซน ปริมาตร 150 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พร้อมกวนอย่างต่อเนื่อง จากนั้นกรองแยกกากที่เหลือออกด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศ แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) จากนั้นคำนวณร้อยละของไขมันที่สกัดได้จากเมล็ดเงาะ โดยเทียบกับน้ำหนักแห้งของตัวอย่างและเก็บสารสกัดที่ได้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป โดยทำการศึกษาโดยการแปรผันปัจจัยต่างๆ ดังนี้ (ดัดแปลงจาก วรรณรดา และคณะ, 2553) [9]

##### 3.4.2.1 อิทธิพลของขนาดเมล็ดเงาะ

ทำเตรียมตัวอย่างเมล็ดเงาะให้ที่มีขนาดต่างๆ คือ ขนาดใหญ่กว่า 10, 10-20, 20-40 และ 60 mesh ด้วยเครื่องเขย่าตะแกรงร่อน จากนั้นนำผงเมล็ดเงาะไปอบให้มีปรับความชื้นเป็นร้อยละ 5-10 โดยน้ำหนัก และทำการสกัดไขมันตามวิธีข้อ 3.4.2 รวมทั้งคำนวณร้อยละของไขมันที่สกัดได้จากเมล็ดเงาะโดยเทียบกับน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง

##### 3.4.2.2 อิทธิพลของระยะเวลาในการสกัด

นำตัวอย่างเมล็ดเงาะขนาดที่คัดเลือกแล้ว นำไปอบให้มีปรับความชื้นเป็นร้อยละ 5-10 โดยน้ำหนัก และทำการสกัดไขมันตามวิธีข้อ 3.4.2 เป็นระยะเวลาต่างๆ คือ 4, 8, 12 และ 24 ชั่วโมง และทำการสกัดไขมันตามวิธีข้อ 3.4.2 รวมทั้งคำนวณร้อยละของไขมันที่สกัดได้จากเมล็ดเงาะโดยเทียบกับน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง



### 3.4.2.3 อิทธิพลของปริมาณตัวทำละลายในการสกัด

นำตัวอย่างเมล็ดเงาะขนาดที่คัดเลือกแล้ว นำไปอบให้มีปริมาณความชื้นเป็นร้อยละ 5-10 โดยน้ำหนัก และทำการสกัดไขมันตามวิธีข้อ 3.4.2 โดยใช้อัตราส่วนของปริมาณวัตถุดิบต่อปริมาณตัวทำละลายเป็น 1:5, 1:7.5 และ 1:10 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในระยะเวลาที่เหมาะสม รวมทั้งคำนวณร้อยละของไขมันที่สกัดได้จากเมล็ดเงาะโดยเทียบกับน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง

## 3.5 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไขมันเงาะ

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไขมันเมล็ดเงาะจากที่ศึกษาในข้อ 3.4.2.1-3.4.2.3 ข้างต้นแล้ว จึงใช้สภาวะดังกล่าวในการสกัดไขมันเมล็ดเงาะเพื่อนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ ดังนี้

### 3.5.1 จุดหลอมเหลว (Melting point) และจุดเกิดผลึก (Crystallization point)

วิเคราะห์จุดหลอมเหลวและจุดเกิดผลึกของไขมันเมล็ดเงาะ โดยใช้เครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริมิเตอร์ (Differential scanning calorimeter, DSC) ทำได้โดยชั่งไขมันเงาะปริมาณ 4-5 มิลลิกรัม ลงในภาชนะอลูมิเนียมสำหรับใส่ตัวอย่าง จากนั้นนำไปวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงความร้อนโดยการลดอุณหภูมิเป็น -50 องศาเซลเซียส และให้ความร้อนเพิ่มขึ้น (Heating) ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนกระทั่งอุณหภูมิเป็น 90 องศาเซลเซียส แล้วทำการลดอุณหภูมิลง (Cooling) ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเหลือ -50 องศาเซลเซียส เครื่องจะทำการบันทึกสัญญาณซึ่งแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงความร้อนของตัวอย่างโดยสามารถวิเคราะห์ลักษณะการดูดหรือคายความร้อนได้จากกราฟ

### 3.5.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดเงาะ

3.5.2.1 วิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (Fat) ในเมล็ดเงาะด้วยวิธี Acid hydrolysis method AOAC Official method 922.06,1922

3.5.2.2 วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (Protein) ในเมล็ดเงาะตามวิธีการของ AOAC Official method 991.20,1994

3.5.2.3 วิเคราะห์ปริมาณไฟเบอร์ (Crude fiber) ในเมล็ดเงาะตามวิธีการของ AOAC Official method 962.09,1982

3.5.2.4 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (Moisture) ในเมล็ดเงาะตามวิธีการของ AOAC Official method 948.22,1925

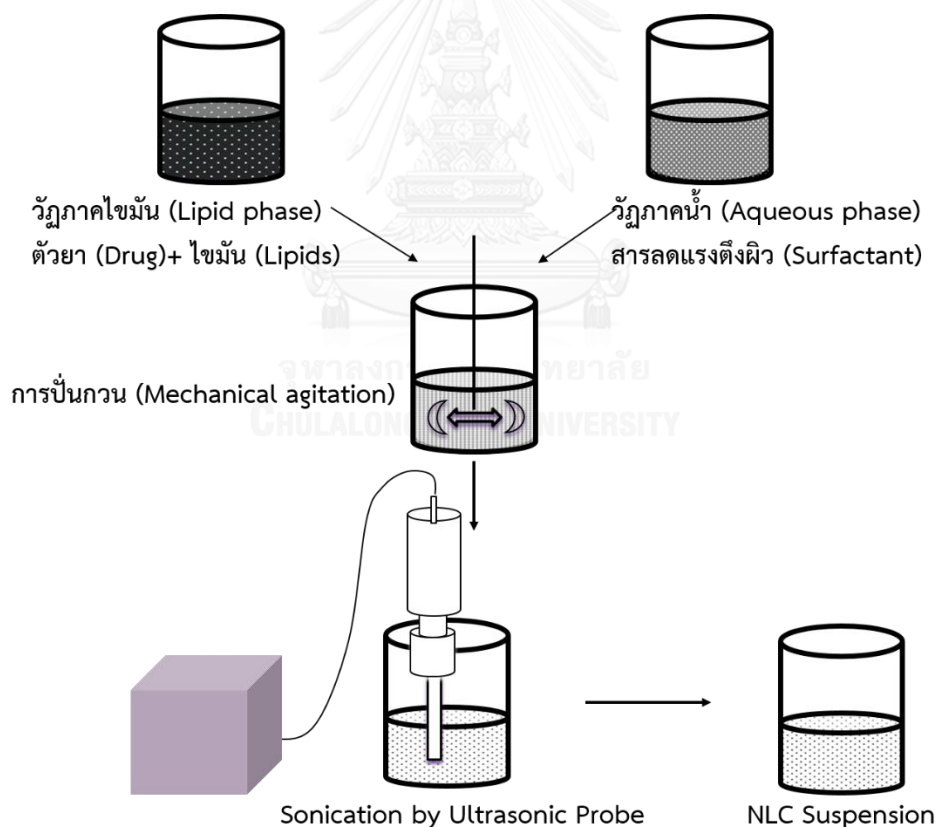
3.5.2.5 วิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (% Ash) เมล็ดเงาะตามวิธีการของ AOAC official method 945.46, 1945

3.5.2.6 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) ในเมล็ดเงาะ  
เปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด = 100-(เปอร์เซ็นต์โปรตีน+เปอร์เซ็นต์ไขมัน+เปอร์เซ็นต์ความชื้น+เปอร์เซ็นต์เถ้า) (ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

### 3.5.3 การศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันของไขมันเมล็ดเงาะ

หาองค์ประกอบของกรดไขมันในไขมันที่สกัดได้จากเมล็ดเงาะด้วยวิธี GC/MS/MS (ศูนย์วิทยาศาสตร์ฮาลาล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

### 3.6 การเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนด้วยวิธี melt-emulsification



รูปที่ 3.1 การเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนด้วยวิธี melt-emulsification

### 3.6.1 อิทธิพลของชนิดของกรดไขมันแข็ง

ทำการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน NLC จากสารละลายกรดไขมันรวม 200 มิลลิกรัมโดยใช้น้ำหนักไขมันเงาะเป็นไขมันเหลว ร่วมกับกรดไขมันชนิดแข็ง 3 ชนิด คือ กรดสเตียริก (stearic acid) หรือ ซิทิลแอลกอฮอล์ (Cetyl alcohol) หรือ กรดปาล์มมิติก (Palmitic acid) ในอัตราส่วนไขมันเหลวต่อไขมันแข็งเป็น 2:2 โดยน้ำหนัก และใช้วิตามินอีและสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงเป็นสารที่ถูกห่อหุ้มที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นำมาละลายรวมกันที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นค่อยๆ เทผสมกับสารละลายสารลดแรงตึงผิว เข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นให้ความร้อนเพิ่มขึ้นเป็น 70 องศาเซลเซียส และปั่นกวนด้วยเครื่อง mechanical stirrer เพื่อให้สารละลายเกิดเป็น อิมัลชัน (primary emulsion) จากนั้นนำไป treated ด้วยเครื่อง ultrasonic cell pulverizer ที่ 750 วัตต์ เพื่อให้เป็นอิมัลชันขนาดเล็ก (miniemulsion) และทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วในน้ำเย็นและกวนอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งเกิดเป็นอนุภาคนาโนที่กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ [22]

### 3.6.2 อิทธิพลของชนิดของสารลดแรงตึงผิว

ทำการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน NLC จากสารละลายกรดไขมันรวม 200 มิลลิกรัมโดยใช้น้ำหนักไขมันเงาะเป็นไขมันเหลว ร่วมกับกรดไขมันชนิดแข็ง 3 ชนิด คือ กรดสเตียริก (stearic acid) หรือ ซิทิลแอลกอฮอล์ (Cetyl alcohol) หรือ กรดปาล์มมิติก (Palmitic acid) ในอัตราส่วนไขมันเหลวต่อไขมันแข็งเป็น 2:2 โดยน้ำหนัก และใช้วิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) เป็นสารที่ถูกห่อหุ้มที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นำมาละลายรวมกันที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นค่อยๆ เทผสมกับสารละลายสารลดแรงตึงผิว ได้แก่ Tween 20, Tween 80 หรือ Poloxamer 188 ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นให้ความร้อนเพิ่มขึ้นเป็น 70 องศาเซลเซียส และปั่นกวนด้วยเครื่อง mechanical stirrer เพื่อให้สารละลายเกิดเป็น อิมัลชัน (primary emulsion) จากนั้นนำไป treated ด้วยเครื่อง ultrasonic cell pulverizer ที่ 750 วัตต์ เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้เป็นอิมัลชันขนาดเล็ก (miniemulsion) และทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วในน้ำเย็นและกวนอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งเกิดเป็นอนุภาคนาโนที่กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ (ดัดแปลงจาก Yuan และคณะ ปี 2007) [22]

### 3.6.3 อิทธิพลของอัตราส่วนไขมันเมล็ดเงาะต่อกรดไขมันรวม

ทำการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน NLC จากสารละลายกรดไขมันรวม 200 มิลลิกรัม โดยใช้น้ำหนักไขมันเงาะเป็นไขมันเหลวร่วมกับกรดไขมันที่คัดเลือกจากข้อ 3.6.1 ในอัตราส่วนไขมันเหลว

ต่อไขมันแข็งต่างๆ คือ 4:0, 3:1, 2:2, 1:3 และ 0:4 โดยน้ำหนักและใช้วิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) เป็นสารที่ถูกห่อหุ้มที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นำมาละลายรวมกันที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นค่อยๆ เทผสมกับสารละลายสารลดแรงตึงผิวที่คัดเลือกจากข้อ 3.6.2 เข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทำการขึ้นรูปเป็นตัวพาไขมันระดับนาโน

#### 3.6.4 อิทธิพลของเวลาในการโซนิเคท (Sonication time)

ทำการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน NLC จากสารละลายกรดไขมันรวม 200 มิลลิกรัม โดยชั่งน้ำหนักไขมันเงาะเป็นไขมันเหลวร่วมกับกรดไขมันที่คัดเลือกจากข้อ 3.6.1 ในอัตราส่วนไขมันเหลวต่อไขมันแข็งที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.6.3 โดยน้ำหนักและใช้วิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) เป็นสารที่ถูกห่อหุ้มที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นำมาละลายรวมกันที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นค่อยๆ เทผสมกับสารละลายสารลดแรงตึงผิวที่คัดเลือกจากข้อ 3.6.2 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทำการขึ้นรูปเป็นตัวพาไขมันระดับนาโน โดยแปรผันเวลาในการโซนิเคทเป็นเวลา 5 10 20 และ 30 นาที

#### 3.6.5 อิทธิพลของความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว

ทำการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน NLC จากสารละลายกรดไขมันรวม 200 มิลลิกรัม โดยชั่งน้ำหนักไขมันเงาะเป็นไขมันเหลว ร่วมกับกรดไขมันที่คัดเลือกในอัตราส่วนที่เหมาะสม และใช้วิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) เป็นสารที่ถูกห่อหุ้มที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นำมาละลายรวมกันที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นค่อยๆ เทผสมกับสารละลายสารลดแรงตึงผิวที่คัดเลือกจากข้อ 3.6.2 ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็น 1.5, 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทำการขึ้นรูปเป็นตัวพาไขมันระดับนาโน โดยใช้เวลาในการโซนิเคทที่เหมาะสมที่เลือกได้จากข้อ 3.6.4

**3.6.6 อิทธิพลของปริมาณสารที่ถูกห่อหุ้มที่ปริมาณต่างๆ** ได้แก่ 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์โดยหนักต่อปริมาณไขมันทั้งหมด

ทำการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน NLC จากสารละลายกรดไขมันรวม 200 มิลลิกรัม โดยชั่งน้ำหนักไขมันเงาะเป็นไขมันเหลว ร่วมกับกรดไขมันที่คัดเลือกในอัตราส่วนที่เหมาะสม และใช้วิตามินอี เป็นสารที่ถูกห่อหุ้มที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ นำมาละลายรวมกันที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นค่อยๆ เทผสมกับสารละลายสารลดแรงตึงผิวที่คัดเลือกจากข้อ 3.6.2 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทำการขึ้นรูปเป็นตัวพาไขมันระดับนาโน โดยใช้เวลาในการโซนิเคทที่เหมาะสมที่เลือกได้จากข้อ 3.6.4

ตารางที่ 3.2 สูตรในการเตรียมตัวพา NLCs

สูตรที่	การแปรผัน	ไขมัน	สารลดแรงตึงผิว	(LL:SL)	ST (min)	%SC	%Drug
1	ไขมันรวม	SF:SA	Tween20	2:2	5	1.5	5
2		SF:CA	Tween20	2:2	5	1.5	5
3		SF:PA	Tween20	2:2	5	1.5	5
4	สารลดแรงตึง ผิว	เลือกจาก ข้อ 1-3	Tween20	2:2	5	1.5	5
5			Tween80	2:2	5	1.5	5
6			Poloxamer 188	2:2	5	1.5	5
7	อัตราส่วนไขมัน เหลวต่อไขมัน แข็ง (LL:SL)	เลือกจาก ข้อ 1-3	เลือกจากข้อ 3.6.2	0:4	5	1.5	5
8				1:3	5	1.5	5
9				2:2	5	1.5	5
10				3:1	5	1.5	5
11	Sonication time (ST)	เลือกจาก ข้อ 1-3	เลือกจากข้อ 3.6.2	เลือกจาก ข้อ 3.6.3	5	1.5	5
12					10	1.5	5
13					20	1.5	5
14	ความเข้มข้น สารลดแรงตึง ผิว (SC)	เลือกจาก ข้อ 1-3	เลือกจากข้อ 3.6.2	เลือกจาก ข้อ 3.6.3 3.6.4	เลือก	1.5	5
15					จาก	3.0	5
16					ข้อ 3.6.4	5.0	5
17	วิตามินอี (%drug)	เลือกจาก ข้อ 1-3	เลือกจากข้อ 3.6.2	เลือกจาก ข้อ 3.6.3 3.6.4	เลือก	เลือก	5
18					จาก	จาก	10
19					ข้อ 3.6.4	ข้อ 3.6.5	20

### 3.6.7 อิทธิพลของชนิดสารสำคัญที่ละลายในน้ำและสารสำคัญที่ละลายในน้ำมัน

ทำการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโน NLC จากสารละลายกรดไขมันรวม 200 มิลลิกรัม โดยชั่งน้ำหนักไขมันเจาะเป็นไขมันเหลว ร่วมกับกรดไขมันที่คัดเลือกในอัตราส่วนที่เหมาะสม และใช้วิตามินอีและสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง เป็นสารที่ถูกห่อหุ้มที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นำมาละลายรวมกันที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นค่อยๆ เทผสมกับสารละลายสารลดแรงตึงผิวที่คัดเลือกจากข้อ 3.6.2 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทำการขึ้นรูปเป็นตัวพาไขมันระดับนาโน โดยใช้เวลาในการโซนิเคทที่เหมาะสมที่เลือกได้จากข้อ 3.6.4 โดยวิตามินอีเป็นสารสำคัญที่ละลายในน้ำมัน (lipophilic) และสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงเป็นสารที่ละลายในน้ำ (hydrophilic)

## 3.7 การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของตัวพาไขมันระดับนาโน

### 3.7.1 การวัดขนาดอนุภาคและค่า Zeta potential ของตัวพาไขมันระดับนาโน

วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของตัวอย่างตัวพาไขมันระดับนาโนและค่า Zeta potential ของ ตัวพาไขมันระดับนาโนที่การห่อหุ้มวิตามินอีและไม่ได้ห่อหุ้มสารสำคัญด้วย Zetasizer หลังจากเจือจาง 20 เท่า ด้วยน้ำกลั่น

### 3.7.2 การศึกษาโครงสร้างและขนาดของอนุภาคนาโนไขมันแข็งโดยเทคนิค transmission electron microscopy (TEM)

นำตัวอย่างสารละลายอนุภาค NLC ที่เตรียมได้มาเจือจางในน้ำกลั่น 10 เท่า จากนั้นดูดสารละลายมา 1 หยด หยดลงบน ลงบนแผ่นโลหะทองแดง แล้วทิ้งให้แห้งประมาณ 15-20 นาที แล้วหยดเพิ่มอีก 1 ครั้ง แล้วทิ้งให้แห้งสนิท (ประมาณ 1 คืน) หลังจากนั้นไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง TEM (ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

### 3.7.3 การวิเคราะห์การทนต่อความร้อนด้วยเครื่อง Differential scanning calorimetry (DSC)

การวิเคราะห์การทนต่อความร้อนด้วยวิธี Differential scanning calorimetry (DSC) ใช้ตัวอย่าง 1-2 มิลลิกรัม ของไขมัน (bulk liquid) มาใส่ใน 40 ไมโครลิตร aluminium pan โดยให้ความร้อนในอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที ในช่วงอุณหภูมิ 25-85 องศาเซลเซียส (เหนือจุดหลอมเหลวของไขมัน) และลดอุณหภูมิลงเหลือ 10 องศาเซลเซียส [53]

### 3.7.4 การศึกษาประสิทธิภาพการกักเก็บวิตามินอีของตัวพาไขมันระดับนาโน

นำตัวอย่างสารละลายอนุภาคนาโนไขมันแข็ง 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอด centrifuge มาปั่นเหวี่ยงที่ 14,593 รอบต่อนาที (20,000 G) เป็นเวลา 45 นาที ดูดสารละลายส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงมาเจือจางด้วยเมทานอล (methanol) ในอัตราส่วน 1:9 จากนั้นนำมากรองผ่าน PVDF syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร นำไปวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินอีด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 292 นาโนเมตร

ประสิทธิภาพการห่อหุ้มสารสำคัญ (The drug entrapment efficiency,  $E_e$ ) และเปอร์เซ็นต์ของสารสำคัญที่ถูกห่อหุ้ม (drug loading,  $L$ ) ของตัวพาไขมันระดับนาโน คำนวณได้จากสมการที่ (1) และ (2)

$$E_e = \left( \frac{W_d - W_s}{W_d} \right) \times 100\% \quad (1)$$

$$L = \left( \frac{W_d - W_s}{W_d - W_s + W_L} \right) \times 100\% \quad (2)$$

เมื่อ  $W_d$  คือ น้ำหนักของวิตามินอีที่เติมเข้าไปในระบบทั้งหมด

$W_s$  คือ น้ำหนักของวิตามินอีที่อยู่ในสารละลายส่วนใส

$W_L$  คือ น้ำหนักของไขมันทั้งหมด [23, 54]

### 3.7.5 การศึกษาประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงของตัวพาไขมันระดับนาโน

นำตัวอย่างสารละลายอนุภาคนาโนไขมันแข็ง 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอด centrifuge มาปั่นเหวี่ยงที่ 14,593 รอบต่อนาที (20,000 G) เป็นเวลา 45 นาที ดูดสารละลายส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงมาเจือจางด้วยเมทานอล (methanol) ในอัตราส่วน 1:9 จากนั้นนำมากรองผ่าน PVDF syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร นำไปวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินอีด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 340.8 นาโนเมตร

ประสิทธิภาพการห่อหุ้มสารสำคัญ (The drug entrapment efficiency,  $E_e$ ) และเปอร์เซ็นต์ของสารสำคัญที่ถูกห่อหุ้ม (drug loading,  $L$ ) ของตัวพาไขมันระดับนาโน สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (1) และ (2) ดังแสดงในข้อ 3.7.4

### 3.7.6 การศึกษาประสิทธิภาพการปลดปล่อยวิตามินอีของตัวพาไขมันระดับนาโน

นำอนุภาค VE-NLC ที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงในข้อ 3.7.4 มากกระจายตัวในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer saline, PBS) pH 7.4 ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปใส่ในถุงไดอะไลซิส (Dialysis bag) (molecular weight cut-off 10000 Da) นำถุงไดอะไลซิสที่บรรจุสารละลายอนุภาค VE-NLC ใส่ในขวดแก้วที่มีสารละลาย PBS ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่า (Shaker) ที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งการหาปริมาณวิตามินอีที่ปลดปล่อยออกมา ทำได้โดยเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ ได้แก่ 2, 4, 6, 8, 12, และ 24 ชั่วโมง โดยทำการเปลี่ยนสารละลาย PBS ใหม่เป็นปริมาตร 60 มิลลิลิตร หลังจากเก็บตัวอย่างโดยวิเคราะห์ปริมาณวิตามินอีที่ปลดปล่อยออกมาด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ตามที่อธิบายในข้อ 3.7.4 สำหรับการเปรียบเทียบกับลักษณะการปลดปล่อยตัวพาที่ไม่ถูกห่อหุ้มด้วยตัวพา ทำได้โดยนำสารละลายวิตามินอีที่ละลายในเมทานอล 0.2 มิลลิลิตร (2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มากระจายลงในสารละลาย PBS ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร [22]

### 3.7.7 การศึกษาประสิทธิภาพการปลดปล่อยสารสกัดของตัวพาไขมันระดับนาโน

นำอนุภาค MSKE-NLC ที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงในข้อ 3.7.4 มากกระจายตัวในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer saline, PBS) pH 7.4 ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปใส่ในถุงไดอะไลซิส (Dialysis bag) (molecular weight cut-off 10000 Da) นำถุงไดอะไลซิสที่บรรจุสารละลายอนุภาค ME-NLC ใส่ในขวดแก้วที่มีสารละลาย PBS ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่า (Shaker) ที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งการหาปริมาณสารสกัดเมล็ดมะม่วงที่ปลดปล่อยออกมา ทำได้โดยเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ ได้แก่ 2, 4, 6, 8, 12 และ 24 ชั่วโมง โดยทำการเปลี่ยนสารละลาย PBS ใหม่เป็นปริมาตร 60 มิลลิลิตร หลังจากเก็บตัวอย่าง โดยวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดเมล็ดมะม่วงที่ปลดปล่อยออกมาด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ตามที่อธิบายในข้อ 3.7.5 สำหรับการเปรียบเทียบกับลักษณะการปลดปล่อยตัวพาที่ไม่ถูกห่อหุ้มด้วยตัวพา ทำได้โดยนำสารละลายของสารสกัดเมล็ดมะม่วงที่ละลายในเมทานอล 0.2 มิลลิลิตร (2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มากระจายลงในสารละลาย PBS ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร [22]



### 3.7.8 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของตัวพาไขมันระดับนาโนด้วยเครื่อง FT-IR spectrometer

วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของกรดไขมันที่ถูกคัดเลือก ไขมันเงาะ วิตามินอี (Tocopherol) และอนุภาค NLC ที่ยังไม่ได้ห่อหุ้มวิตามินอีและที่ห่อหุ้มวิตามินอีไว้แล้ว ด้วยเทคนิค FT-IR เพื่อให้แน่ใจว่าตัวพาไขมันระดับนาโน (NLC) ที่เตรียมได้ มีองค์ประกอบของกรดไขมันที่ถูกคัดเลือกและไขมันเงาะห่อหุ้มวิตามินอีไว้ได้จริง (ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

### 3.7.9 การศึกษาความคงตัวของตัวพาไขมันระดับนาโน

หลังจากเตรียมตัวอย่างเสร็จแล้ว จะนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ค่า Particle size และ zeta potential เป็นข้อมูลสำหรับวันที่ 1 หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างไว้ที่ อุณหภูมิต่างกัน (4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส) โดยจะนำตัวอย่างมาวิเคราะห์ค่า particle size และ zeta potential อีกครั้ง หลังจากนั้นอีก 15 และ 30 วัน เพื่อดูความคงตัวของตัวพาไขมันระดับนาโน [55]

## บทที่ 4

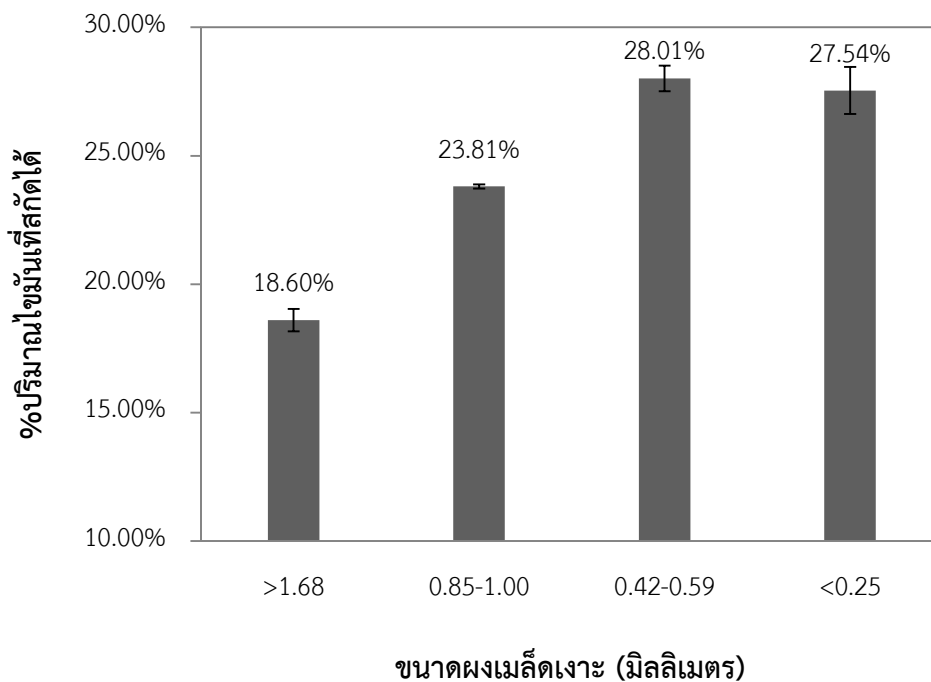
### ผลการทดลอง และวิเคราะห์ผลการทดลอง

#### 4.1 การสกัดไขมันเมล็ดเงาะ

ในงานวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาสกัดไขมันเมล็ดเงาะในงานวิจัยนี้ ด้วยวิธีการสกัดแบบหมักหรือแบบแช่ (Maceration method) โดยได้ทำการศึกษาอิทธิพลของขนาดผงเมล็ดเงาะ เวลาในการสกัด และปริมาณตัวทำละลายเฮกเซน ที่มีผลต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้ รวมถึงการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของไขมันเมล็ดเงาะที่สกัดได้ โดยผลการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

##### 4.1.1 ผลของขนาดผงเมล็ดเงาะต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้

การทดลองนี้เป็นการเปลี่ยนแปลงขนาดของผงเมล็ดเงาะที่ใช้ในการสกัดไขมัน โดยมีสมมุติฐานว่าขนาดผงวัตถุดิบที่เล็กลง จะส่งผลให้ปริมาณไขมันที่สกัดได้มากขึ้น [9] โดยจะใช้อัตราส่วนผงเมล็ดเงาะต่อตัวทำละลายเฮกเซนที่ 1:7.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง ใช้เวลาในการสกัด 4 ชั่วโมง โดยทำการแปรผันขนาดผงเมล็ดเงาะเป็น >1.68, 0.85-1.00, 0.42-0.59 และ <0.25 มิลลิเมตร

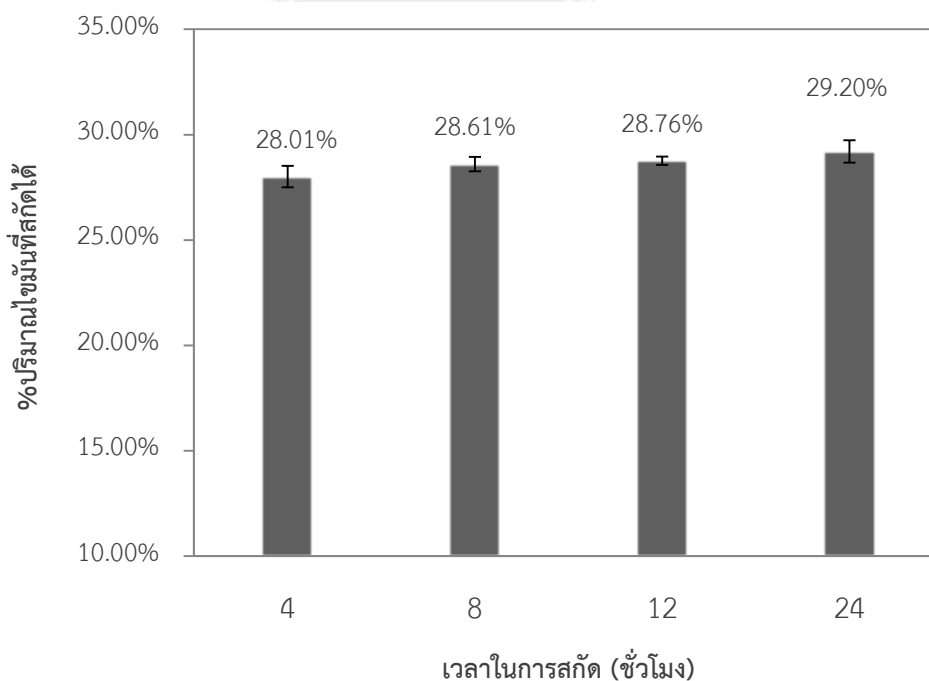


รูปที่ 4.1 ผลของขนาดผงเมล็ดเงาะต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้

ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.1 พบว่า ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากเมล็ดงาที่มีขนาด >1.68, 0.85-1.00, 0.42-0.59 และ <0.25 มิลลิเมตร มีค่าเท่ากับ  $18.60 \pm 0.44$ ,  $23.81 \pm 0.08$ ,  $28.01 \pm 0.50$  และ  $27.54 \pm 0.92$  เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อทำการลดขนาดเมล็ดงาเล็กน้อยจะให้ปริมาณไขมันมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) แต่การสกัดผงเมล็ดที่ขนาด 0.42-0.59 และ <0.25 มิลลิเมตร พบว่าปริมาณไขมันที่สกัดได้มีค่าไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) เนื่องจากขนาดเมล็ดงาที่เล็กน้อยทำให้ตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าสู่เมล็ดงาได้ดีขึ้น ซึ่งผลที่ได้มีแนวโน้มเช่นเดียวกับการศึกษาของวรรณรดา (2553) [9] ที่รายงานถึงการสกัดว่า เมื่อขนาดผงเมล็ดงาเล็กน้อยทำให้สกัดไขมันงาออกมาได้มากขึ้น แต่หากลดขนาดเมล็ดงาเล็กน้อยถึงระดับหนึ่ง ปริมาณไขมันที่สกัดได้จะคงที่

#### 4.1.2 ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้

ในการทดลองนี้ทำการแปรผันเวลาที่ใช้ในการสกัดไขมันเมล็ดงา เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมที่จะสามารถสกัดไขมันออกจากเมล็ดงาได้ในปริมาณมากที่สุด โดยใช้ผงเมล็ดงาที่มีขนาด 0.42-0.59 มิลลิเมตร ใช้อัตราส่วนผงเมล็ดงาต่อตัวทำละลายเฮกเซนที่ 1:7.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง โดยทำการแปรผันเวลาในการสกัด 4, 8, 12 และ 24 ชั่วโมง ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.2

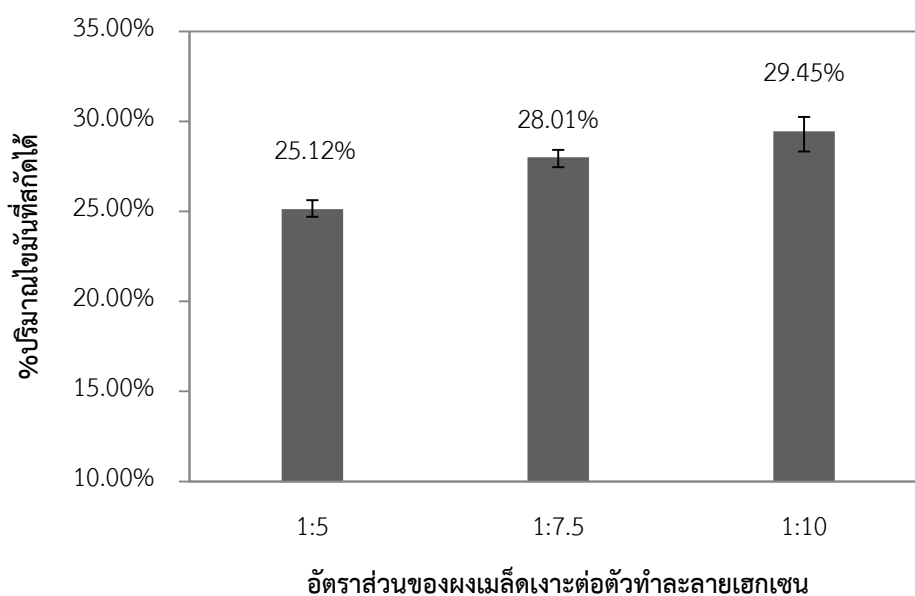


รูปที่ 4.2 ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้

จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากเมล็ดงาที่มีขนาด 0.42-0.59 มิลลิเมตร ที่ระยะเวลา 4, 8, 12 และ 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ  $28.01 \pm 0.50$ ,  $28.61 \pm 0.28$ ,  $28.76 \pm 0.67$  และ  $29.20 \pm 0.54$  เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ โดยค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันมากในทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ดังนั้นจะเห็นว่าเวลาเพียง 4 ชั่วโมง เพียงพอสำหรับการสกัดไขมันจากผงเมล็ดงาขนาด 0.42-0.59 มิลลิเมตร

#### 4.1.3 ผลของปริมาณตัวทำละลายต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้

จากการทดลองข้อที่ 4.1.1-4.1.2 สรุปได้ว่าขนาดผงเมล็ดงาที่ 0.42-0.59 มิลลิเมตร และเวลาในสกัดที่ 4 ชั่วโมง เหมาะสมต่อการสกัดไขมันเมล็ดงาด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ (Maceration method) การศึกษาต่อไปนี้เป็นการศึกษาอิทธิพลของปริมาณตัวทำละลายเฮกเซน โดยแปรผันอัตราส่วนของเมล็ดงาต่อปริมาณตัวทำละลายเป็น 1:5, 1:7.5 และ 1:10 ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 4.3



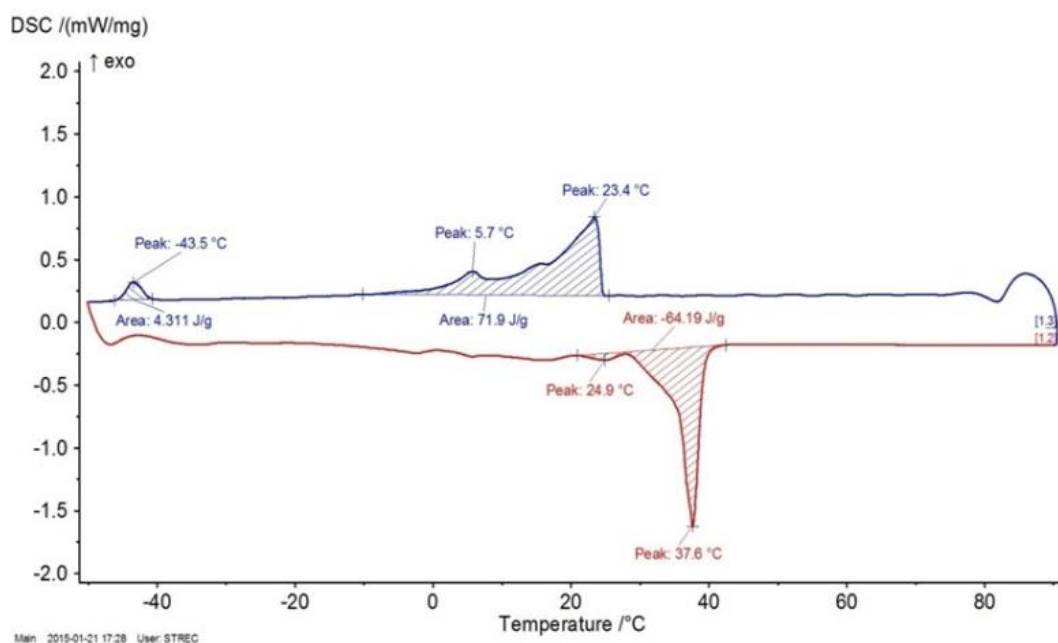
รูปที่ 4.3 ผลของปริมาณตัวทำละลายเฮกเซนต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้

จากผลการทดลอง พบว่า การสกัดโดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดเงาะต่อปริมาณตัวทำละลาย เป็น 1:5, 1:7.5 และ 1:10 จะได้ปริมาณไขมันเท่ากับ  $25.12 \pm 0.47$ ,  $28.01 \pm 0.50$  และ  $29.45 \pm 1.00$  เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าปริมาณไขมันที่สกัดได้โดยใช้อัตราส่วนเป็น 1:5 และ 1:7.5 มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) และเมื่อเพิ่มอัตราส่วนเป็น 1:10 พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันกับการสกัดที่อัตราส่วน 1:7.5 ในทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่า การเพิ่มปริมาณตัวทำละลายทำให้ความสามารถในการสกัดไขมันเพิ่มขึ้น เนื่องจากวิธีสกัดแบบหมักเย็นหรือการหมักแบบแช่เย็น หากมีการใช้ปริมาณตัวทำละลายที่น้อยเกินไป จะไม่เพียงพอต่อการสกัดไขมัน ในทางกลับกัน ถ้าการใช้ตัวทำละลายมากเกินไปก็เป็นการสิ้นเปลือง

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไขมัน คือ การใช้ผงเมล็ดเงาะขนาด 0.42-0.59 มิลลิเมตร ที่อัตราส่วนผงเมล็ดเงาะต่อตัวทำละลายที่เหมาะสม คือ 1:7.5 ทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะ 4 ชั่วโมง

## 4.2 สมบัติทางกายภาพและเคมีของไขมันเมล็ดเงาะ

### 4.2.1 จุดหลอมเหลว (Melting point) และจุดเกิดผลึก (Crystallization point) ของไขมันเมล็ดเงาะ



รูปที่ 4.4 จุดหลอมเหลวและจุดเกิดผลึกของไขมันเมล็ดเงาะ

การวิเคราะห์จุดหลอมเหลวและจุดเกิดผลึกของสารตัวอย่าง ด้วยเครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริมิเตอร์ (differential scanning calorimeter) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงพลังงานความร้อน (Thermal transition) ของไขมันเมลิตงาเย โดยวัดจากการเปลี่ยนแปลงพลังงาน (การดูดหรือคายพลังงาน) ของสารตัวอย่าง ในสถานะที่ถูกเพิ่มหรือลดอุณหภูมิ ทั้งนี้เมื่อเพิ่มความร้อนให้กับตัวอย่าง จะมีการดูดพลังงานความร้อนเพื่อเปลี่ยนสถานะจากของแข็งเป็นของเหลว จะมีพีคเกิดขึ้น แสดงถึงจุดหลอมเหลวของสารชนิดเดียว หรือสารผสม เกิดขึ้นได้ผลการวิเคราะห์เมื่อลดอุณหภูมิแก่ตัวอย่าง ตัวอย่างมีการคายพลังงานเพื่อเปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นของแข็ง ทำให้ได้ข้อมูลสำหรับการเกิดผลึกของสาร

เมื่อนำไขมันเมลิตงาเยที่สกัดได้มาวิเคราะห์ ได้ผลดังแสดงดังรูปที่ 4.4 พบว่า เมื่อเพิ่มความร้อนให้ไขมันงาเย จะมีการดูดพลังงานความร้อนเพื่อเปลี่ยนสถานะจากของแข็งเป็นของเหลวเกิดขึ้น 2 พีค ได้แก่ ที่อุณหภูมิ 24.9 และ 37.6 องศาเซลเซียส ทำให้รู้ถึงจุดหลอมเหลวของไขมันที่ได้

เมื่อทำการลดอุณหภูมิทำให้เกิดผลึกของไขมันเมลิตงาเย โดยเกิดพีคในการคายพลังงานทั้งหมด 3 พีค ได้แก่ ที่อุณหภูมิ 23.4, 5.7 และ -43.5 องศาเซลเซียส สาเหตุเนื่องมาจากการมีชนิดไตรกลีเซอไรด์ที่แตกต่างกัน โดยไตรกลีเซอไรด์ชนิดที่มีมวลโมเลกุลสูง จะมีอุณหภูมิในการเกิดผลึกสูง ทำให้เกิดผลึกก่อน และตามด้วยไตรกลีเซอไรด์ชนิดที่มีอุณหภูมิในการเกิดผลึกต่ำหรือมีจุดหลอมเหลวต่ำ ซึ่งแตกต่างจากการรายงานของวรรณรดาและคณะ (2553) [9] ที่รายงานถึงการเกิดพีคในการดูดความร้อนของไขมันงาเยจำนวน 3 พีค ได้แก่ ที่อุณหภูมิ 4.23, 37.45 และ 49.83 และมีพีคการคายพลังงานในการเกิดผลึกจำนวน 3 พีค ได้แก่ ที่อุณหภูมิ 40.87, 19.12 และ -16.12 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อาจเนื่องจากองค์ประกอบของกรดโอเลอิกซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวในปริมาณที่ไขมันงาเยที่แตกต่างกัน โดยวรรณรดาและคณะ (2553) [9] รายงานว่า ไขมันเมลิตงาเยมีปริมาณกรดโอเลอิก 36.79 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ไขมันเมลิตงาเยที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณโอเลอิก 39.32 เปอร์เซ็นต์ ที่เป็นสาเหตุมาจากการใช้วัตถุดิบหรือสถานะในการสกัดไม่เหมือนกัน

#### 4.2.2 องค์ประกอบของเมล็ดเงาะ

นำตัวอย่างเมล็ดเงาะมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ตามวิธีมาตรฐาน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดเงาะ

องค์ประกอบทางเคมี	(กรัม/100กรัม)
คาร์โบไฮเดรต	61.78
ไขมัน	24.47
โปรตีน*	8.79
กากใย	2.30
ความชื้น	3.35

หมายเหตุ : ไนโตรเจนแฟคเตอร์ = 6.25

จากผลวิเคราะห์ที่ได้ พบว่า เมล็ดเงาะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากที่สุด คือ มีค่าร้อยละ 61.78 รองลงมาคือ ปริมาณไขมัน ที่มีค่าร้อยละ 24.47 มีโปรตีนในปริมาณที่น้อยเพียงร้อยละ 8.79 ทั้งนี้องค์ประกอบของเมล็ดเงาะแต่ละสายพันธุ์และสถานที่ในการปลูก จะทำให้มีองค์ประกอบในปริมาณที่แตกต่างกัน ดังจะเห็นว่าในงานวิจัยของ Harahap (2555) [2] ที่รายงานว่ามีเมล็ดเงาะจากประเทศมาเลเซีย มีปริมาณคาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน เถ้า และ ความชื้น เท่ากับร้อยละ 48.10, 38.90, 12.40, 2.26 และ 3.31 ตามลำดับ

#### 4.2.3 องค์ประกอบของกรดไขมันในไขมันเมล็ดเงาะ

เมื่อนำไขมันจากเมล็ดเงาะมาวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมัน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2 พบว่า มีองค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัวอยู่ประมาณ 51.39 เปอร์เซ็นต์ โดยมีกรดอะโรมาติกเป็นองค์ประกอบหลักสูงถึง 37.74 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดมีพันธะคู่ 1 พันธะ มีอยู่ในปริมาณ 48.40 เปอร์เซ็นต์ โดยมีกรดโอเลอิกเป็นองค์ประกอบหลักในปริมาณ 39.32 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ไขมันจากเมล็ดเงาะยังมีกรดไขมันชนิดอื่นๆ เป็นองค์ประกอบอีกในปริมาณที่น้อยกว่า ได้แก่ กรดกอนโดอิก กรดสเตียริก กรดปาล์มมิติก กรดเบเฮดิก กรดไลโนเลอิก เป็นต้น เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Harahap (2555) [2] พบว่า มีปริมาณใกล้เคียงกัน โดยพบว่ามีกรดโอเลอิก กรดอะโรมาติก กรดกอนโดอิก กรดสเตียริก กรดปาล์มมิติก กรดเบเฮดิก ในปริมาณ 40.45, 36.36, 4.92, 2.31, 5.15 และ 2.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ วรรณรดา (2553) [9]

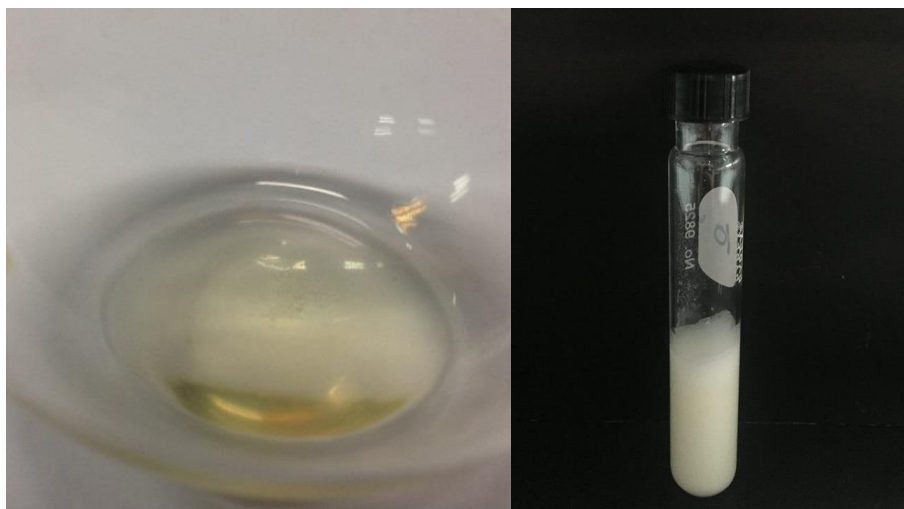
รายงานว่ามีปริมาณกรดโอเลอิก กรดอะราคิดิก กรดสเตียริกกรดลิโนเลนิก กรดปาล์มมิติก กรดเบเฮดิก ในไขมันเมล็ดเงาะในปริมาณ 36.79, 34.32, 7.03, 6.48, 4.69 และ 1.37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบของกรดไขมันในไขมันเมล็ดเงาะ

กรดไขมัน	โครงสร้าง	เปอร์เซ็นต์ (%)
กรดปาล์มมิติก	C16:0	4.10
กรดปาล์มมิโทเลอิก	C16:1	0.42
กรดสเตียริก	C18:0	5.85
กรดโอเลอิก	C18:1 n-9 cis	39.32
กรดไลโนเลอิก	C18:2 n-9 cis	1.79
กรดอะราคิดิก	C20:0	37.74
กรดกอนโดอิก	C20:1 n-6	6.87
กรดเบเฮดิก	C22:0	3.35
กรดลิโนเซอริก	C24:0	0.35
ไม่ระบุ		0.21
กรดไขมันอิ่มตัว		51.39
กรดไขมันไม่อิ่มตัว		48.40

ไขมันและน้ำมันแต่ละชนิดจะมีสีที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับสารที่เจือปนอยู่ในนั้น ซึ่งไขมันที่สกัดได้จากเมล็ดเงาะสายพันธุ์โรงเรียน (โรงเรียนมาลีสามพราน, นครปฐม) มีลักษณะเป็นไขมันแข็งสีขาวที่อุณหภูมิห้อง เมื่อนำไปหลอมพบว่าไขมันเงาะมีสีเหลืองอ่อนๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.5 ไขมันเมล็ดเงาะที่สกัดได้ในงานวิจัยนี้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้องและหลอมเหลวที่อุณหภูมิร่างกาย





รูปที่ 4.5 ไขมันเมล็ดเงาะเมื่อหลอมละลาย (ก) และแข็งตัว (ข)

#### 4.3 ผลการศึกษาการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนชนิด NLC ด้วยวิธี Melt-emulsification

การศึกษากการเตรียมตัวพาไขมันระดับนาโนจากไขมันเมล็ดเงาะ ห่อหุ้มวิตามินอี ด้วยวิธี Melt-emulsification โดยในงานวิจัยครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ชนิดของกรดไขมันแข็ง ชนิดของสารลดแรงตึงผิว อัตราส่วนไขมันเมล็ดเงาะต่อกรดไขมันรวม เวลาในการโซนิเคท ความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว และ ปริมาณสารที่ถูกรวม ซึ่งจะส่งผลต่อคุณสมบัติของระบบตัวพาไขมัน NLC ที่เตรียมได้ โดยจะทำการเปรียบเทียบขนาดอนุภาค ค่าศักย์ภาพซีต้า (Zeta potential, ZP) และค่าดัชนีการกระจายตัวของขนาดอนุภาค (Polydispersity index, PI) รวมถึงพิจารณาความคงตัวของกายภาพของตัวพาไขมัน ซึ่งผลการทดลองต่างๆ แสดงดังต่อไปนี้

##### 4.3.1 ผลของชนิดกรดไขมันแข็งที่ส่งผลต่อคุณลักษณะของระบบตัวพาไขมัน NLC

ทำการเตรียมตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตร (NLC) เพื่อห่อหุ้มวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) จากไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับไขมันแข็งชนิดต่างๆ ด้วยวิธี Melt-emulsification โดยใช้ปริมาณไขมันที่เป็นตัวห่อหุ้มทั้งหมด 200 มิลลิกรัม ที่อัตราส่วนไขมันเมล็ดเงาะต่อไขมันแข็งเท่ากับ 2:2 โดยน้ำหนัก ที่ความเข้มข้นของวิตามินอี 5 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด และใช้ 1.5 เปอร์เซ็นต์ Tween20 เป็นสารลดแรงตึงผิว ทำการแปรผันชนิดไขมันแข็ง 3 ชนิด ได้แก่ เซทิลแอลกอฮอล์ กรดสเตียริก และกรดปาล์มมิติก ได้ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 4.3

เมื่อพิจารณาขนาดอนุภาคเฉลี่ยของตัวพาไขมันที่เตรียมได้จากไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับกรดไขมันแข็งชนิดต่างๆ พบว่า อนุภาค NLC ที่เตรียมได้จะมีขนาดอยู่ในช่วง  $229.2 \pm 5.9$  -  $878.0 \pm 33.2$  นาโนเมตร โดยอนุภาค NLC ที่เตรียมจากไขมันเงาะร่วมกับกรดปาล์มมีติกมีขนาดใหญ่ที่สุด ( $878.0 \pm 33.2$  นาโนเมตร) ส่วนอนุภาคที่เตรียมจากไขมันเงาะร่วมกับเซทิลแอลกอฮอล์ หรือ กรดสเตียริก มีขนาดใกล้เคียงกันไม่เกิน 300 นาโนเมตร ทั้งนี้อนุภาคที่เตรียมจากไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับกรดสเตียริก จะมีขนาดอนุภาคเล็กที่สุด เท่ากับ  $229.2 \pm 5.9$  นาโนเมตร

**ตารางที่ 4.3** ลักษณะของอนุภาค NLC ที่เตรียมโดยการแปรผันชนิดกรดไขมันแข็งร่วมกับไขมันเงาะ

สูตรที่	ไขมัน (2:2)	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)	ดัชนีการกระจายตัว ขนาดอนุภาค (PI)	ค่าศักย์ซีต้า (ZP) (มิลลิโวลต์)
1	SF:CA	$274.3 \pm 19.4$	$0.547 \pm 0.029$	$-19.9 \pm 0.9$
2	SF:SA	$229.2 \pm 5.9$	$0.247 \pm 0.002$	$-31.4 \pm 1.3$
3	SF:PA	$878.0 \pm 33.2$	$0.874 \pm 0.075$	$-28.7 \pm 0.8$

หมายเหตุ SF= ไขมันเงาะ, CA=เซทิลแอลกอฮอล์, SA= กรดสเตียริก, PA= กรดปาล์มมีติก

Polydispersity Index (PI) = ดัชนีการกระจายตัว, Zeta Potential (ZP) = ค่าศักย์ซีต้า

ค่าดัชนีการกระจายตัว (PI) จะบ่งถึงการกระจายตัวของขนาดอนุภาค หากมีค่า PI น้อย บ่งบอกถึงการกระจายตัวแคบ หมายถึง อนุภาคส่วนใหญ่มีขนาดไม่แตกต่างกันมาก หากมีค่า PI มาก หรือ มีการกระจายตัวกว้าง หมายถึง อนุภาคส่วนใหญ่มีขนาดใหญ่อเล็กแตกต่างกันมาก ทั้งนี้ค่า PI มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 1 บ่งบอกถึงการกระจายตัวของขนาดอนุภาค โดยค่า PI ที่น้อยกว่า 0.3 บ่งบอกถึงการกระจายตัวที่ดีของอนุภาค

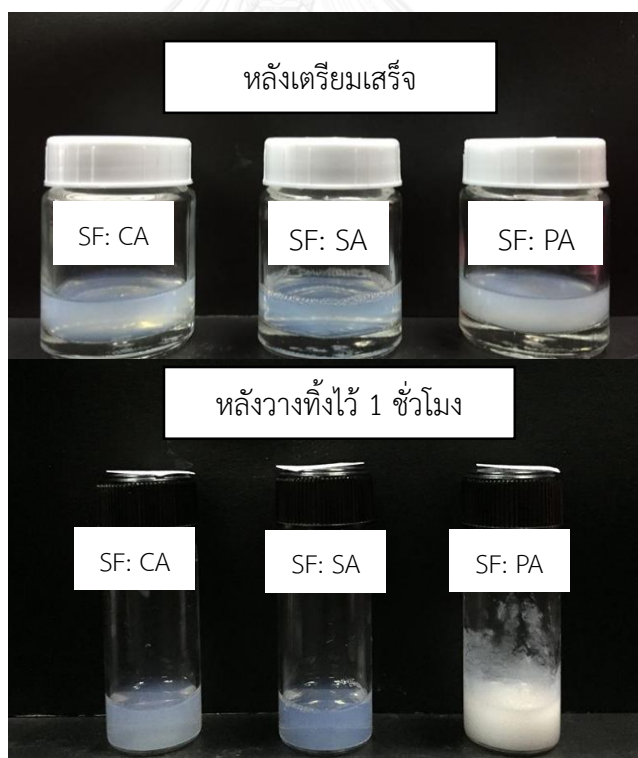
จากผลที่ได้ในตารางที่ 4.3 จะพบว่า อนุภาค NLC ที่เตรียมจากไขมันเงาะร่วมกับกรดไขมันทั้ง 3 ชนิด มีค่า PI ในช่วง  $0.247 \pm 0.002$  -  $0.874 \pm 0.075$  โดยส่วนอนุภาค NLC ที่เตรียมจากไขมันเงาะและกรดสเตียริกมีการกระจายตัวแคบและมีขนาดอนุภาคใกล้เคียงกัน ทำให้มีค่า PI น้อยที่สุด รองลงมา คือ อนุภาคที่เตรียมจากเซทิลแอลกอฮอล์ ส่วนอนุภาคที่เตรียมจากกรดปาล์มมีติก มีค่า PI ค่อนข้างสูง

ค่าศักย์ภาพซีต้า (ZP) ของอนุภาค เป็นตัวบ่งชี้ความคงตัวในการเก็บรักษาของสารละลายคอลลอยด์ โดยทั่วไปการรวมตัวของอนุภาคมีโอกาสที่จะเกิดขึ้นกับอนุภาคที่มีประจุ ที่มี Zeta potential (ZP) สูง เนื่องจากแรงผลักทางไฟฟ้า ซึ่งค่า ZP ควรมากกว่า 30 หรือน้อยกว่า -30 มิลลิโวลต์ ถึงจะแสดงว่าอนุภาคมีความคงตัวทางกายภาพที่ดี [39, 40]

จากการทดลองครั้งนี้ พบว่า อนุภาคตัวพาไขมันที่ใช้ไขมันเงาะร่วมกับกรดสเตียริก จะมีเสถียรภาพในสารละลายมากที่สุด คือ มีค่า ZP เท่ากับ -31.4 มิลลิโวลต์ ส่วนอนุภาคที่เตรียมจากเซทิลแอลกอฮอล์และกรดปาล์มมิติก จะมีค่า ZP เท่ากับ -19.9 และ -28.7 มิลลิโวลต์ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาความคงตัวของทางกายภาพโดยมองจากตาเปล่า ดังแสดงในรูปที่ 4.6 พบว่า ตัวพา NLC ที่เตรียมได้จากไขมันเงาะร่วมกับกรดปาล์มมิติก (palmitic acid) เกิดการรวมตัวกัน สารละลายมีลักษณะเป็นเจลชั้นหลังจากการเตรียมไม่ถึง 1 ชั่วโมง ความขุ่นขึ้นแสดงถึง ขนาดอนุภาคค่อนข้างใหญ่ ส่วนอนุภาคที่เตรียมด้วยไขมันเงาะร่วมกับซีทิลแอลกอฮอล์ (cetyl alcohol) และกรดสเตียริก (stearic acid) ยังคงลักษณะเป็นสารละลายคอลลอยด์ ซึ่งแสดงถึง การมีอนุภาคขนาดเล็ก

จากผลที่ได้ทั้งหมดจึงทำการคัดเลือกอนุภาคตัวพาไขมันที่ใช้ไขมันเงาะร่วมกับกรดสเตียริก ในการศึกษาขั้นต่อไป เนื่องจากมีขนาดอนุภาคที่เล็กที่สุด มีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่ดีและมีความคงตัวสูง



รูปที่ 4.6 สารละลายตัวพาไขมัน NLC ที่เตรียมได้จากไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับไขมันแข็งชนิดต่างๆ

#### 4.3.2 ผลของชนิดสารลดแรงตึงผิวที่ส่งผลต่อคุณลักษณะของระบบตัวพาไขมัน NLC

เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวมีบทบาทที่สำคัญมากต่อการเตรียมตัวพาไขมัน NLC โดยจะเป็นตัวทำอิมัลชันที่ทำให้อนุภาคไขมันกระจายตัวอยู่ในวัฏภาคน้ำได้แล้ว ยังมีอิทธิพลต่อขนาดอนุภาค ศักยภาพซีต้าและค่าดัชนีการกระจายตัวของอนุภาค NLC ที่เตรียมได้อีกด้วย ดังนั้นจึงทำการศึกษาอิทธิพลของชนิดของสารลดแรงตึงผิว

ทำการเตรียมตัวพาไขมันจากไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับกรดสเตียริก ที่ปริมาณไขมันทั้งหมด 200 มิลลิกรัม ใช้อัตราส่วนไขมันเมล็ดเงาะต่อไขมันแข็งเท่ากับ 2:2 สารลดแรงตึงผิว 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยแปรผันชนิดสารลดแรงตึงผิว จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ Tween20, Tween80 และ Poloxamer188 ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (non-ionic emulsifier) และใช้วิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด เป็นตัวแทนตัวยาหรือสารสำคัญชนิดละลายในไขมัน ได้ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ลักษณะของอนุภาค NLC ที่เตรียมโดยการแปรผันชนิดของสารลดแรงตึงผิว

สูตรที่	สารลดแรงตึงผิว (Surfactant)	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)	ดัชนีการกระจายตัว (PI)	ค่าศักย์ซีต้า (ZP) (มิลลิโวลต์)
4	Tween 20	233.7±2.68	0.257±0.001	-31.4±0.4
5	Tween 80	484.0±7.20	0.544±0.003	-26.4±1.1
6	Poloxamer 188	435.9±5.30	0.432±0.011	-22.1±0.5

เมื่อพิจารณาขนาดอนุภาคเฉลี่ยของตัวพาไขมันจากไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับกรดสเตียริก พบว่า อนุภาค NLC ที่เตรียมได้จะมีขนาดอยู่ในช่วง 233.7±2.68- 484.0±7.20 นาโนเมตร โดยอนุภาค NLC ที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิด Tween 20 จะมีขนาดเล็กที่สุด (233.7±2.68 นาโนเมตร) ส่วนอนุภาคที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิด Tween 80 และ Poloxamer 188 จะมีขนาดอนุภาคที่ใกล้เคียงกัน คือ มีค่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 484.0±7.20 และ 435.9±5.30 นาโนเมตร ( $P < 0.05$ ) โดยการใช้ Tween 80 ทำให้ได้ขนาดอนุภาคใหญ่กว่าเป็น 2 เท่าของการใช้ Tween 20

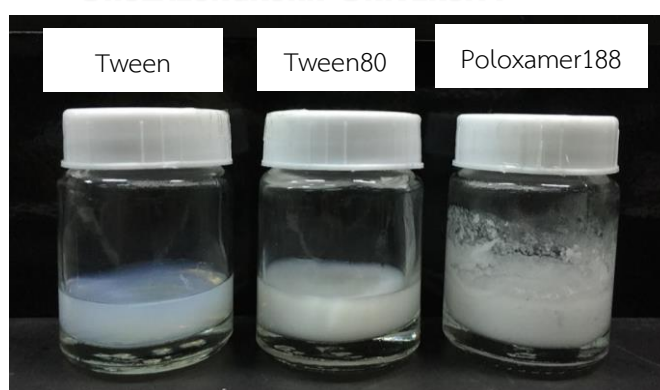
เมื่อพิจารณาค่าดัชนีการกระจายตัวของอนุภาคที่เตรียมได้ พบว่า จะมีค่า PI ในช่วง 0.257±0.001 - 0.544±0.003 โดยค่า PI จากการเตรียมอนุภาค NLC โดยใช้ Tween 20 จะมีค่า PI ที่น้อยที่สุดเท่ากับ 0.257±0.001 ซึ่งเป็นค่าที่น้อยกว่า 0.3 ถือว่า มีการกระจายตัวที่ดี รองลงมา คือ ส่วนค่า PI ของอนุภาคที่ใช้ชนิด Poloxamer 188 ส่วนการใช้ Tween 80 จะทำให้มีการกระจายตัวของอนุภาคกว้างที่สุด เนื่องจากมีค่า PI ที่มากที่สุด

ส่วนการเปรียบเทียบความเสถียรทางกายภาพจากค่าศักย์ซีต้า พบว่า อนุภาคที่เตรียมจากสารลดแรงตึงผิวทั้ง 3 ชนิด มีค่าศักย์ซีต้าที่ต่ำใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง  $-22.1 \pm 0.5$  ถึง  $-31.4 \pm 0.4$  มิลลิโวลต์ โดยการเตรียมโดยใช้ Tween 20 จะทำให้ได้ค่าต่ำที่สุด คือ มีค่าเท่ากับ  $-31.4 \pm 0.4$  มิลลิโวลต์ ถือว่า อนุภาคที่ได้มีความคงตัวสูง ส่วนอนุภาคที่เตรียมโดยใช้สารลดแรงตึงผิวชนิด Tween 80 มีความคงตัวดีเช่นเดียวกัน เนื่องจากมีค่าใกล้เคียง  $-30$  มิลลิโวลต์ และส่วนการใช้ Poloxamer 188 จะทำให้มีค่าศักย์ซีต้าสูงกว่าเล็กน้อย

เมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพของสารละลายตัวพาที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ พบว่า สารละลายที่เตรียมจาก Poloxamer 188 จะมีลักษณะขุ่นขึ้น และเกิดการรวมตัวของอนุภาค เมื่อวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 ชั่วโมงหลังจากการเตรียม ดังแสดงในรูปที่ 4.7

สาเหตุที่ทำให้การเลือกใช้ชนิดสารลดแรงตึงผิว มีผลต่อลักษณะระบบและขนาดอนุภาคที่เตรียมได้ เนื่องจากการเตรียมระบบที่มีต้องมีค่า Hydrophilic-lipophilic balance (HLB) อยู่ในช่วง 12-16 ถือว่าเป็นค่าที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w emulsion) เพื่อให้ได้ระบบที่มีความเสถียร ซึ่งค่า HLB ของ Tween 20 และ Tween 80 เท่ากับ 16.7 และ 15 ตามลำดับ ส่วน Poloxamer 188 ที่มีค่า HLB เท่ากับ 24 ซึ่งเป็นค่าที่สูงมาก อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้อนุภาคมีขนาดใหญ่กว่า โดยผลการทดลองนี้มีแนวโน้มไปในทางเดียวกันกับการรายงานของ Das และคณะ (2012) [41] ที่รายงานว่า การใช้ Poloxamer 188 ทำให้อนุภาค NLC ที่เตรียมได้มีขนาดใหญ่กว่าอนุภาค NLC ที่เตรียมได้จาก Tween 20 และ Tween 80

จากผลที่ได้จึงทำการคัดเลือกการเตรียมตัวพาไขมันจากไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับกรดสเตียริก โดยใช้สารลดแรงตึงผิวชนิด Tween 20 เพื่อศึกษาในขั้นต่อไป



รูปที่ 4.7 สารละลายตัวพา NLC ที่เตรียมได้จากสารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ

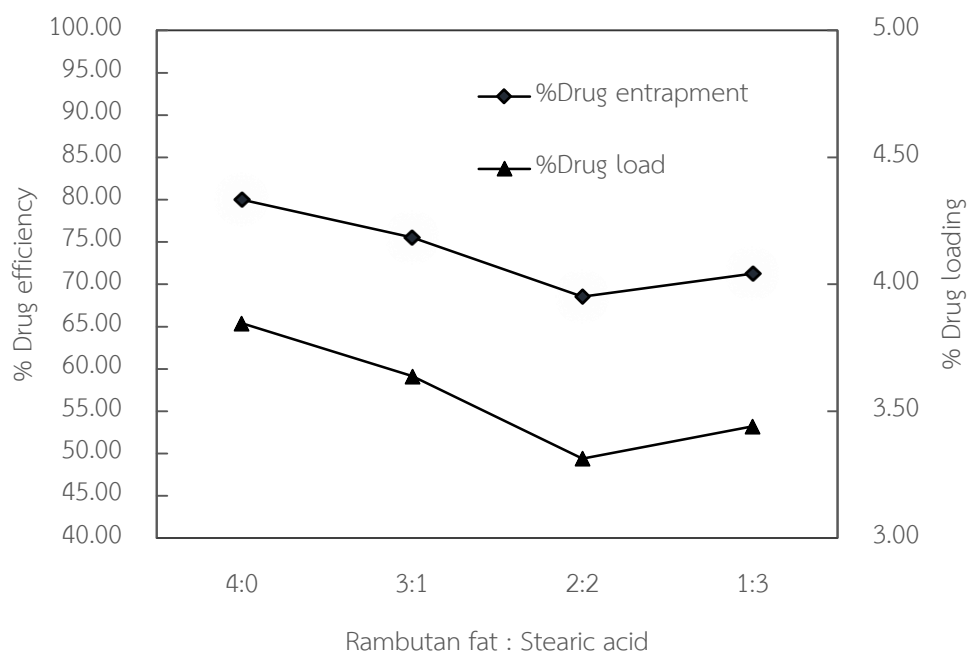
#### 4.3.3 ผลของอัตราส่วนไขมันเมลิตงาต่อกรดไขมันร่วมที่ส่งผลต่อคุณลักษณะของระบบตัวพาไขมัน NLC

เนื่องจากอัตราส่วนของปริมาณไขมันเหลวและไขมันแข็ง มีความสำคัญต่อขนาดอนุภาคและประสิทธิภาพการกักเก็บตัวยาหรือสารสำคัญ ดังนั้นจึงต้องทำการเตรียมตัวพา NLC จากไขมันงาพร้อมกับกรดสเตียริก โดยใช้ปริมาณไขมันที่เป็นตัวห่อหุ้มทั้งหมด 200 มิลลิกรัม ทำการแปรผันอัตราส่วนเป็น 4:0, 1:3, 2:2 และ 3:1 และใช้ Tween20 ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารลดแรงตึงผิว เพื่อห่อหุ้มวิตามินอีที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ และนำมาทำการวิเคราะห์ลักษณะของระบบที่เตรียมได้

ตารางที่ 4.5 ลักษณะของอนุภาค NLC ที่เตรียมโดยการแปรผันอัตราส่วนไขมันเมลิตงาต่อไขมันแข็งชนิดกรดสเตียริก

สูตรที่	SF:SA	Drug Free nanoparticles			Drug loaded nanoparticles		
		Z-Average (d.nm)	PI	ZP (mV)	Z-Average (d.nm)	PI	ZP (mV)
7	4:0	115.7	0.409	-26.93±0.8	120.9	0.310	-36.93±0.5
8	3:1	219.3	0.454	-33.47±1.0	250.0	0.550	-33.53±0.3
9	2:2	229.2	0.247	-31.40±1.3	233.7	0.257	-31.43±0.4
10	1:3	243.2	0.224	-31.60±0.5	251.8	0.228	-34.23±0.9

จากผลการวิเคราะห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.5 พบว่า อนุภาค NLC ที่ห่อหุ้มวิตามินอี (drug loaded nanoparticles) มีขนาดใหญ่กว่าอนุภาคที่ไม่ได้ห่อหุ้มวิตามินอี (drug free nanoparticles) เล็กน้อย เนื่องจากการรวมตัวของวิตามินอีภายในตัวอนุภาคตัวพา และพบว่าขนาดอนุภาคขึ้นอยู่กับอัตราส่วนไขมันเมลิตงาต่อกรดสเตียริก โดยเมื่อปริมาณไขมันเมลิตงาเพิ่มขึ้น จาก 1 ถึง 4 ส่วน อนุภาคจะมีขนาดลดลง ซึ่งมีค่า เท่ากับ 251.8, 233.7, 250.0 และ 120.9 นาโนเมตร ตามลำดับ โดยค่าศักย์ภาพซีต้าที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ จะมีค่าอยู่ที่ประมาณ -34 มิลลิโวลต์ และไม่มีแนวโน้มว่าจะมีค่าลดลงเมื่อปริมาณไขมันเมลิตงาเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าการกระจายตัวของอนุภาค NLC ที่ได้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นระบบที่มีความเสถียรทางกายภาพ ซึ่งผลมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันกับการรายงานของ Hu และคณะ (2005) [21] ที่รายงานว่า การเพิ่มปริมาณกรดโอเลอิกที่เป็นไขมันเหลว ทำให้ขนาดอนุภาคลดลง เช่นเดียวกับรายงานของ Ma, Q. และคณะ (2007) [34] ที่รายงานว่าอัตราส่วนไขมันเหลวมากกว่าไขมันแข็ง ในขนาดที่เล็กกว่าการใช้ไขมันแข็งมากกว่าไขมันเหลว



**รูปที่ 4.8** ประสิทธิภาพการกักเก็บวิตามินอี ของตัวพาไขมันที่เตรียมได้จากการแปรผันอัตราส่วนของไขมันเงาะต่อกรดสเตียริก

จากการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการห่อหุ้มวิตามินอีของตัวพา NLC โดยห่อหุ้มวิตามินอี ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณไขมันทั้งหมด ผลการวิเคราะห์แสดงดังรูปที่ 4.8 พบว่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มของตัวพา VE-NLC ที่เตรียมด้วยไขมันเงาะร่วมกับกรดสเตียริก (SF:SA) ที่อัตราส่วนต่างๆ โดยจากการผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มวิตามินอี ที่อัตราส่วน 1:3, 2:2, 3:1 และ 4:0 เป็น 71.27, 68.55, 75.58 และ 80.01 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นว่าการเพิ่มปริมาณไขมันเงาะทำให้ประสิทธิภาพการกักเก็บวิตามินอีเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Souto และคณะ (2004) [42] ที่รายงานว่า การรวมตัวกันของไขมันชนิดแข็งและไขมันชนิดเหลว จะไปรบกวนโครงสร้างผลึก ทำให้เมทริกซ์ของอนุภาคไขมันมีความไม่สมบูรณ์มากขึ้น ส่งผลให้มีพื้นที่ในการกักเก็บตัวยาหรือสารสำคัญมากขึ้น และจากการรายงานของ Hu และคณะ (2005) [21] ที่รายงานว่า การเพิ่มปริมาณไขมันเหลวทำให้ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสำคัญมากขึ้นเนื่องจากตัวยาสามารถละลายได้ดีในไขมันเหลว

จากงานวิจัยของ Hu และคณะ (2005) [21] ได้ทำการเตรียมอนุภาคโดยการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วน พบว่า การเพิ่มปริมาณไขมันเหลว (กรดโอเลอิก) ในระบบจะทำให้อนุภาคมีขนาดเล็กลง เนื่องจากไขมันเหลวจะไปช่วยลดความหนืดภายในอนุภาค NLC จึงส่งผลให้เกิดการลดของแรงตึงผิวทำให้อนุภาคที่เตรียมได้มีขนาดเล็กลง รวมทั้งยังทำให้มีประสิทธิภาพการกักเก็บตัวยาที่ดีมากขึ้น

เช่นเดียวกับ Ma, Q. และคณะ (2007) [34] ที่รายงานว่าอัตราส่วนของไขมันเหลวต่อไขมันแข็งส่งผลโดยตรงต่อขนาดอนุภาค การกระจายตัวของขนาดอนุภาค และความคงตัวของอนุภาคตัวพา เนื่องจากอนุภาคตัวพาประกอบด้วยของผสมของไขมันทั้ง 2 ชนิด

#### 4.3.4 ผลของเวลาในการโซนิเคท (Sonication time) ที่ส่งผลต่อคุณลักษณะของระบบตัวพาไขมัน NLC

เนื่องจากเวลาในการโซนิเคทมีผลต่อขนาดอนุภาค ค่าดัชนีการกระจายตัวของขนาดอนุภาค (polydispersity index) และ ค่าศักยภาพซีต้าของระบบตัวพา NLC ดังนั้นจึงทำการศึกษาอิทธิพลของเวลาในการโซนิเคท โดยทำการเตรียมตัวพาไขมันจากไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับกรดสเตียริก ที่ปริมาณไขมันทั้งหมด 200 มิลลิกรัม ใช้อัตราส่วนไขมันเมล็ดเงาะต่อไขมันแข็งเท่ากับ 3:1 (คัดเลือกจากการทดลองในข้อ 4.3.3) ท่อหุ้มวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด และใช้ 1.5 เปอร์เซ็นต์ Tween20 เป็นสารลดแรงตึงผิว ทำการแปรผันเวลาในการโซนิเคท ที่ 5, 10 และ 20 นาที ได้ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ลักษณะของอนุภาค NLC ที่เตรียมโดยการแปรผันเวลาในการโซนิเคท

สูตรที่	เวลา (นาที)	SF:SA	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)	ดัชนีการกระจายตัว (PI)	ค่าศักยภาพซีต้า (ZP)
11	5	3:1	250.0±4.30	0.550±0.029	-33.5±0.3
12	10	3:1	176.2±3.95	0.329±0.036	-30.9±0.8
13	20	3:1	177.5±10.55	0.244±0.003	-23.8±0.3

เมื่อพิจารณาขนาดอนุภาคของตัวพา NLC ที่เตรียมได้ พบว่าขนาดอนุภาคของตัวพา NLC มีขนาดอยู่ในช่วง 176.2±3.95-250.0±4.30 นาโนเมตร ซึ่งจะเห็นว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการโซนิเคทจาก 5 เป็น 10 นาที อนุภาคมีขนาดเล็กลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเพิ่มเวลาจาก 10 นาทีเป็น 20 นาที ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของขนาดอนุภาคเมื่อพิจารณาจากค่าดัชนีการกระจายตัวของขนาดอนุภาค (PI) พบว่าลดลงจาก 0.550-0.244 และค่าศักยภาพซีต้า (ZP) ลดลงจาก -33.5 ถึง -23.8 มิลลิโวลต์ เมื่อเวลาในการโซนิเคทเพิ่มขึ้น แนวโน้มที่ได้เป็นไปตามการรายงานของ Landfester และคณะ (1999) [52] โดยเพิ่มเวลาในการโซนิเคทมากกว่า 10 นาที ขนาดอนุภาคที่เตรียมได้ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งมีแนวโน้มแบบเดียวกันกับการรายงานของ Das และคณะ (2012) [41] ที่แปรผันเวลาโซนิเคทที่ 1-30 พบว่าที่เวลาหลังจาก 10 นาที ขนาดอนุภาคที่ได้ ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



และเมื่อพิจารณาค่าดัชนีการกระจายตัว (Polydispersity index, PI) ของอนุภาคตัวพา NLC ในสารละลาย พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการโซนิเคทเพิ่มขึ้นจาก 5-20 นาที จะทำให้ค่า PI ลดลงจาก  $0.550 \pm 0.029$  -  $0.244 \pm 0.003$  ซึ่งหมายถึงอนุภาคในระบบมีขนาดที่เท่ากันมากขึ้น

#### 4.3.5 ผลของความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิวที่ส่งผลต่อคุณลักษณะของระบบตัวพาไขมัน NLC

เนื่องจากปริมาณของสารลดแรงตึงผิวส่งผลต่อลักษณะของตัวพา NLC โดยเมื่อปริมาณสารลดแรงตึงผิวมากขึ้นจะทำให้อนุภาคมีขนาดเล็กลง และเมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวสูงขึ้นจะช่วยให้ระบบที่เตรียมได้มีความเสถียร รวมทั้งช่วยป้องกันไม่ให้อนุภาคเกิดการรวมตัวกัน [41, 51] ดังนั้นจึงทำการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว

ทำการเตรียมตัวพา NLC จากไขมันเงาะร่วมกับกรดสเตียริก โดยใช้ปริมาณไขมันที่เป็นตัวห่อหุ้มทั้งหมด 200 มิลลิกรัม ในอัตราส่วน 3:1 เพื่อห่อหุ้มวิตามินอีที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ และใช้เวลาในการโซนิเคท 10 นาที (คัดเลือกจากการทดลองข้อที่ 4.3.4) โดยแปรผันความเข้มข้นของ Tween20 ที่ 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 1.5, 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ แล้วจึงทำการวิเคราะห์ลักษณะของระบบที่เตรียมได้ซึ่งให้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.7

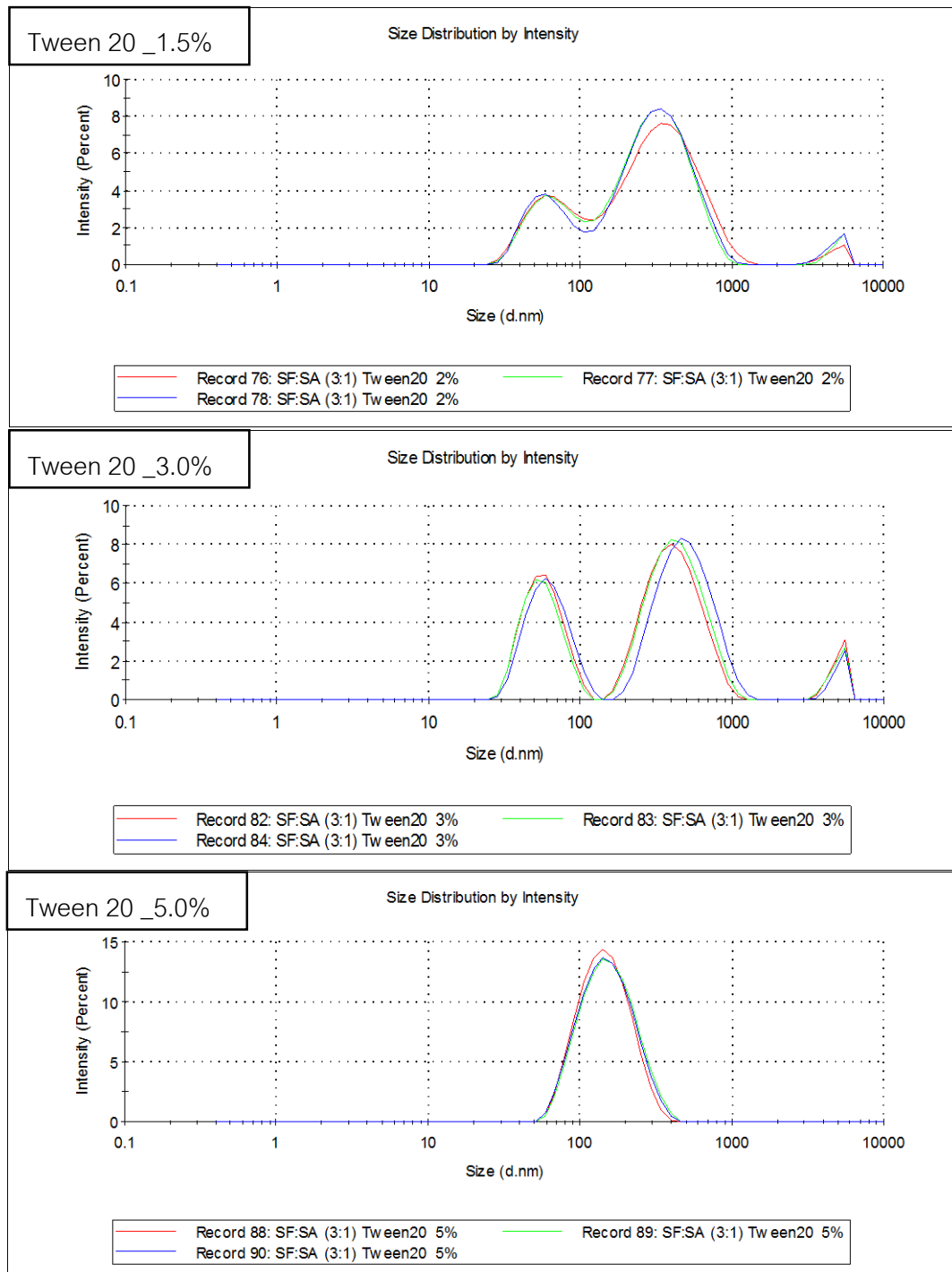
ตารางที่ 4.7 ลักษณะของอนุภาค NLC ที่เตรียมโดยการแปรผันความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิว

สูตรที่	Tween 20 (%)	SF:SA	ขนาดอนุภาค (นาโนเมตร)	ดัชนีการกระจายตัว (PI)	ค่าศักย์ภาพซีต้า(ZP) (มิลลิโวลต์)
14	1.5	3:1	$176.23 \pm 3.95$	$0.329 \pm 0.036$	$-30.9 \pm 0.8$
15	3.0	3:1	$152.17 \pm 4.64$	$0.265 \pm 0.012$	$-29.2 \pm 0.8$
16	5.0	3:1	$139.43 \pm 1.15$	$0.165 \pm 0.017$	$-31.0 \pm 0.8$

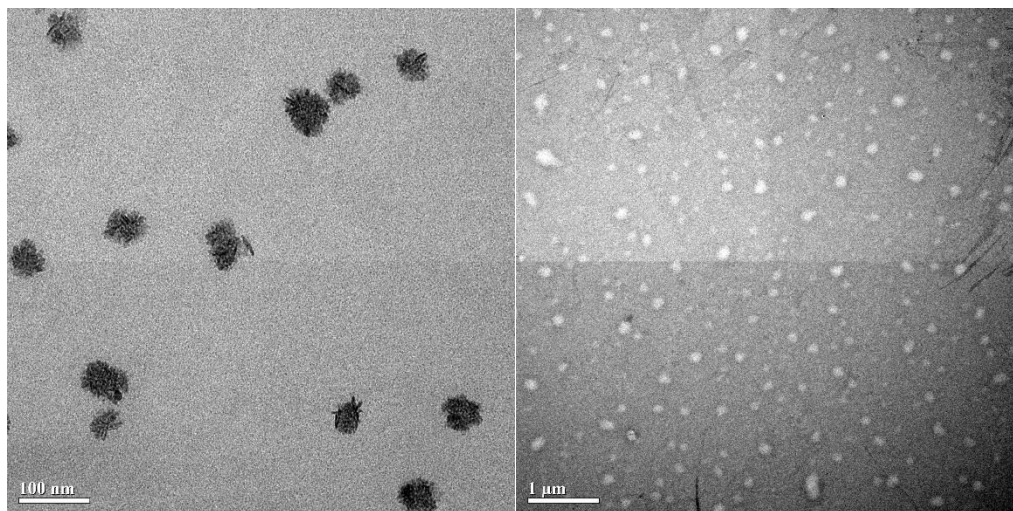
เมื่อพิจารณาขนาดอนุภาคของตัวพา NLC ที่เตรียมได้พบว่า ขนาดอนุภาคลดลง จาก  $176.23 \pm 3.95$  -  $139.43 \pm 1.15$  นาโนเมตร โดยการใช้ Tween 20 ที่ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ ให้ขนาดอนุภาคเล็กลงที่สุด ( $139.43 \pm 1.15$  นาโนเมตร) และที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ให้ขนาดอนุภาคใหญ่ที่สุด ( $176.23 \pm 3.95$  นาโนเมตร) เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวที่มากขึ้นจะไปลดแรงตึงผิวของไขมันในขณะที่หลอมเหลวส่งผลให้อนุภาคมีขนาดเล็กลง [41]

และเมื่อพิจารณาค่า PI พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้น Tween 20 จาก 1.5-5.0 เปอร์เซ็นต์ ค่า PI จะลดลงจาก  $0.329 \pm 0.036$  -  $0.165 \pm 0.017$  แต่ปริมาณสารลดแรงตึงผิวที่เปลี่ยนแปลง ไม่ส่งผลกระทบต่อความคงตัวของภาพของอนุภาค NLC ซึ่งดูจากค่า ZP ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง -29.2 ถึง -31.0 มิลลิโวลต์

เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.9 ที่แสดงกราฟการกระจายตัวของขนาดอนุภาค (size distribution) ของตัวพา NLC จะเห็นว่ากราฟการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่เตรียมได้จากการใช้ Tween 20 ความเข้มข้น 1.5 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะกราฟที่เกิดขึ้นมีหลายพีคและกว้างซึ่งหมายถึงขนาดของอนุภาคในระบบมีความแตกต่างกันมาก ส่วนที่เตรียมโดยใช้ Tween 20 ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ กราฟมีเพียงพีคเดียว ซึ่งมีลักษณะเป็นระฆังคว่ำและแคบ (narrow size distribution) บ่งชี้ได้ว่าอนุภาคที่เตรียมได้จากระบบข้างต้นมีการกระจายของขนาดอนุภาคที่ดี นั่นหมายถึงตัวพา NLC ที่เตรียมได้มีขนาดเท่าๆกันทั้งระบบ ยืนยันได้จากค่า PI ที่ลดลงจาก  $0.329$ - $0.165$  เมื่อความเข้มข้นของ Tween 20 เพิ่มขึ้นจาก 1.5-5.0 เปอร์เซ็นต์ และผลยังสอดคล้องกับข้อมูลที่ได้รับจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแบบจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope, TEM) ดังแสดงในรูปที่ 4.10 โดยผลการทดลองมีแนวโน้มไปในทางเดียวกับการรายงานของ Das และคณะ (2012) [41]



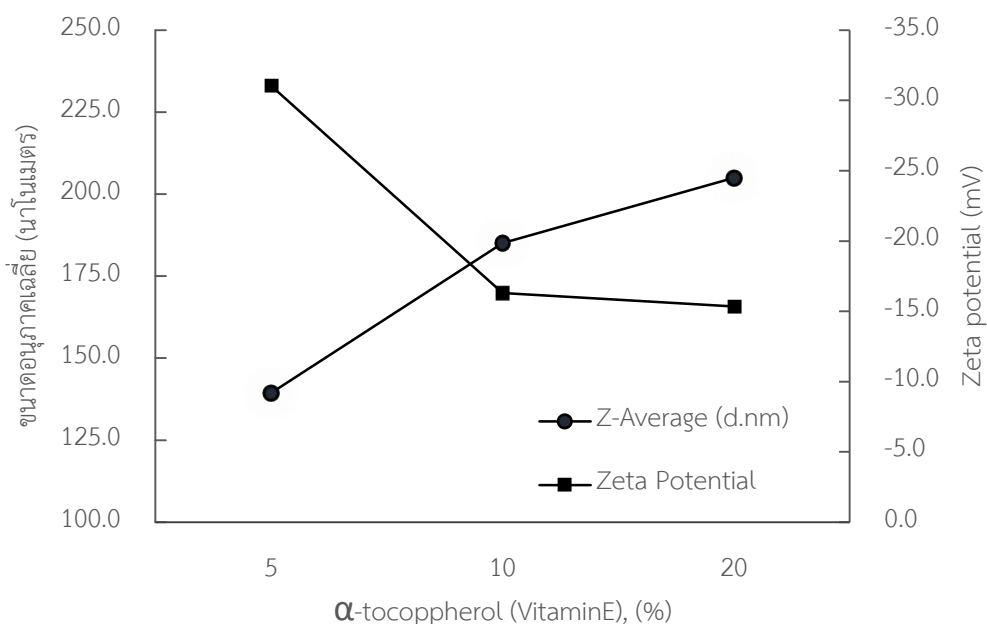
รูปที่ 4.9 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตร (NLC) ที่เตรียมจากไขมันเงาะต่อกรดสเตียริก 3:1 และ Tween 20 เข้มข้น 1.5, 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ห่อหุ้มวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) 5.0 เปอร์เซ็นต์



**รูปที่ 4.10** ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคนาโนไขมัน NLC ที่เตรียมจากไขมันเงาะร่วมกับกรดสเตียริกที่อัตราส่วน 3:1 ท่อหุ้มวิตามินอี 5 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ Tween 20 เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์

#### 4.3.6 ผลของปริมาณวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ที่ถูกท่อหุ้ม

ในการตรวจสอบประสิทธิภาพในการท่อหุ้มตัวยาของตัวพา NLC ที่เตรียมด้วยวิธี melt-emulsification โดยใช้ไขมันเงาะต่อกรดสเตียริกที่อัตราส่วน 3:1 โดยน้ำหนัก และใช้ Tween 20 เป็นสารลดแรงตึงผิว ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ (คัดเลือกจากการทดลองข้อที่ 4.3.5) ทำการแปรผันปริมาณวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ สูตรการเตรียมดูจากตารางที่ 3.2 (สูตรที่ 17 18 และ 19) จากผลการทดลองดังรูปที่ 4.11 แสดงให้เห็นว่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยของตัวพา NLC เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณวิตามินอีเพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มขึ้นของขนาดอนุภาคเกิดจากการรวมตัวของวิตามินอีกับอนุภาค นอกจากนี้ยังพบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงประจุของตัวพา NLC ที่เตรียมจากการเติมวิตามินอีที่ปริมาณแตกต่างกัน ซึ่งพิจารณาจากค่าศักย์ภาพซีต้าลดลงเมื่อปริมาณวิตามินอีเพิ่มขึ้น ในส่วนของการลดลงของค่าศักย์ภาพซีต้าอาจเกิดได้จาก 2 ปัจจัยด้วยกัน ปัจจัยแรกคือ เมื่อขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้นนำไปสู่ความหนาแน่นประจุของอนุภาคที่ต่ำลงและการเพิ่มขึ้นของปริมาณวิตามินอี ยังสามารถไปลดความหนาแน่นประจุและค่าศักย์ภาพซีต้า



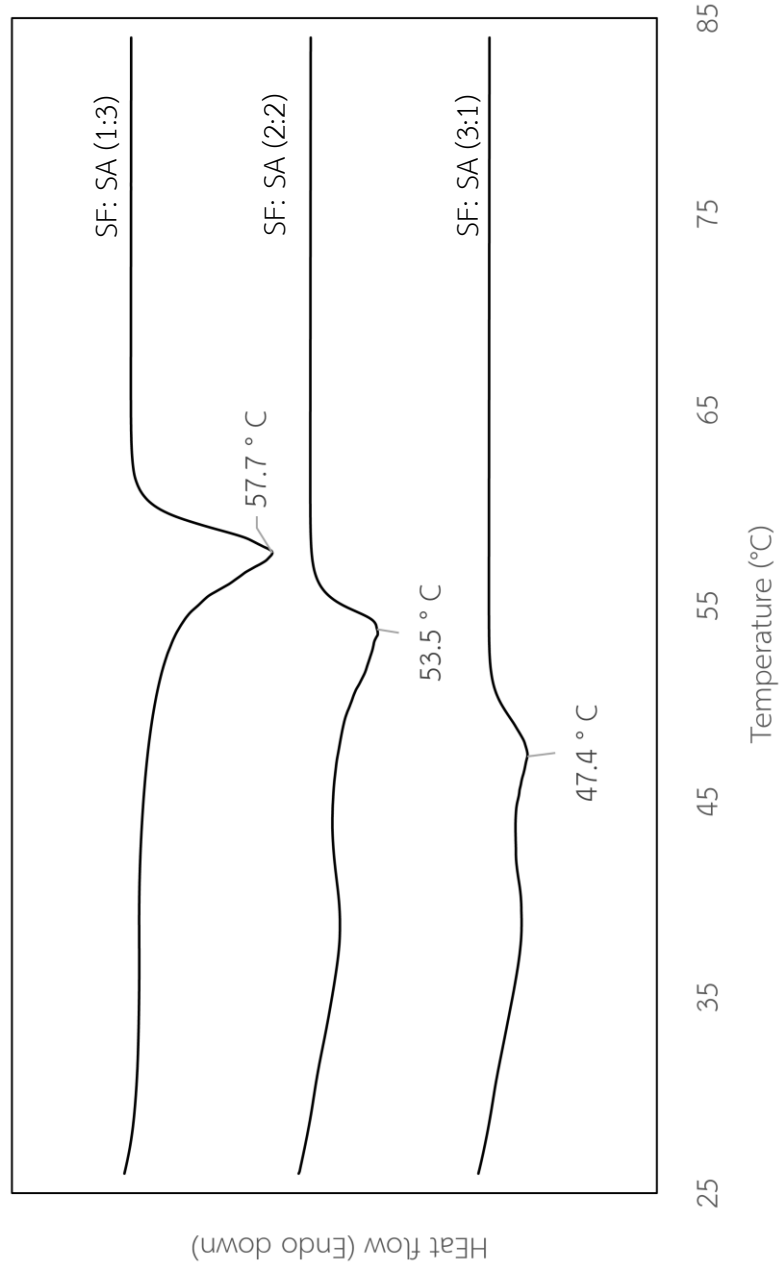
รูปที่ 4.11 ขนาดอนุภาคและศักย์ภาพซีต้าของตัวพา NLC โดยแปรผันปริมาณวิตามินอีที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.8 ลักษณะของอนุภาคนิวคลีที่เตรียมโดยการแปรผันปริมาณวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol)

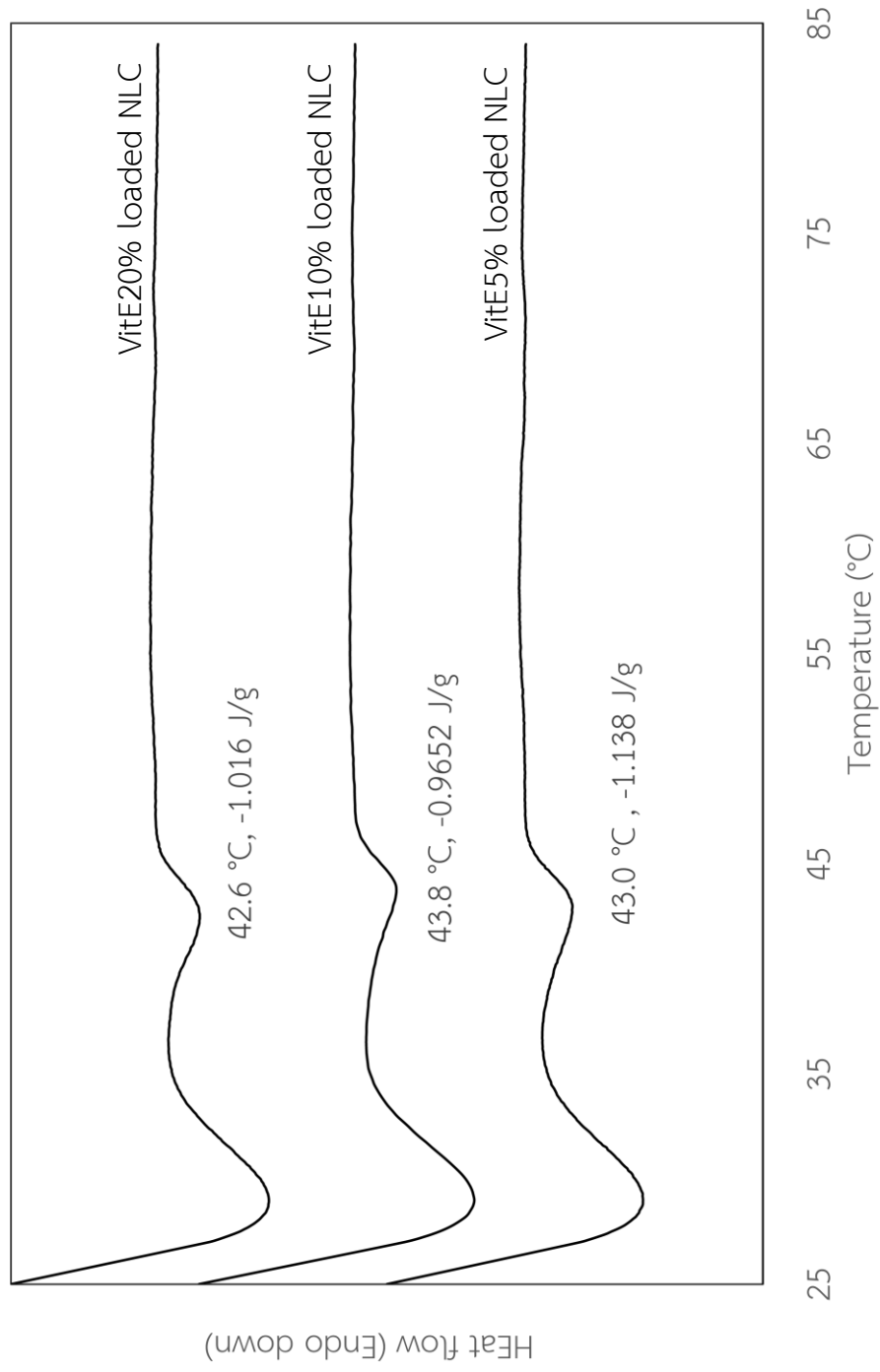
สูตรที่	ปริมาณตัวยาที่ใส่เข้าไปในระบบ	ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (นาโนเมตร)	ประสิทธิภาพการกักเก็บตัวยา (%)	ปริมาณตัวยาที่ถูกกักเก็บ (%)
18	5%	139.4	90.59	4.33
19	10%	185.1	82.16	7.59
20	20%	205.0	84.02	14.39

และผลการทดลองในตารางที่ 4.8 แสดงการเปลี่ยนแปลงของประสิทธิภาพการกักเก็บวิตามินอีและปริมาณวิตามินอีที่ถูกห่อหุ้ม พบว่าประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาคนิวคลีที่แปรผันความเข้มข้นวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) เป็น 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 90.59, 82.16 และ 84.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสรุปได้ว่าประสิทธิภาพในการกักเก็บจะลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารที่ถูกห่อหุ้ม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอัตราส่วนวิตามินอีต่อปริมาณไขมันที่มากขึ้น ทำให้ปริมาณไขมันไม่เพียงพอต่อการห่อหุ้ม ซึ่งแนวโน้มเป็นไปในทางเดียวกับการรายงานของ Das และคณะ (2012) [41]

#### 4.3.7 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางความร้อนของตัวอย่างด้วยวิธี Differential scanning calorimetry (DSC)



รูปที่ 4.12 การวิเคราะห์ DSC ของไขมันเงาร่วมกับกรดสเตียริกอัตราส่วน 1:3 2:2 และ 3:1



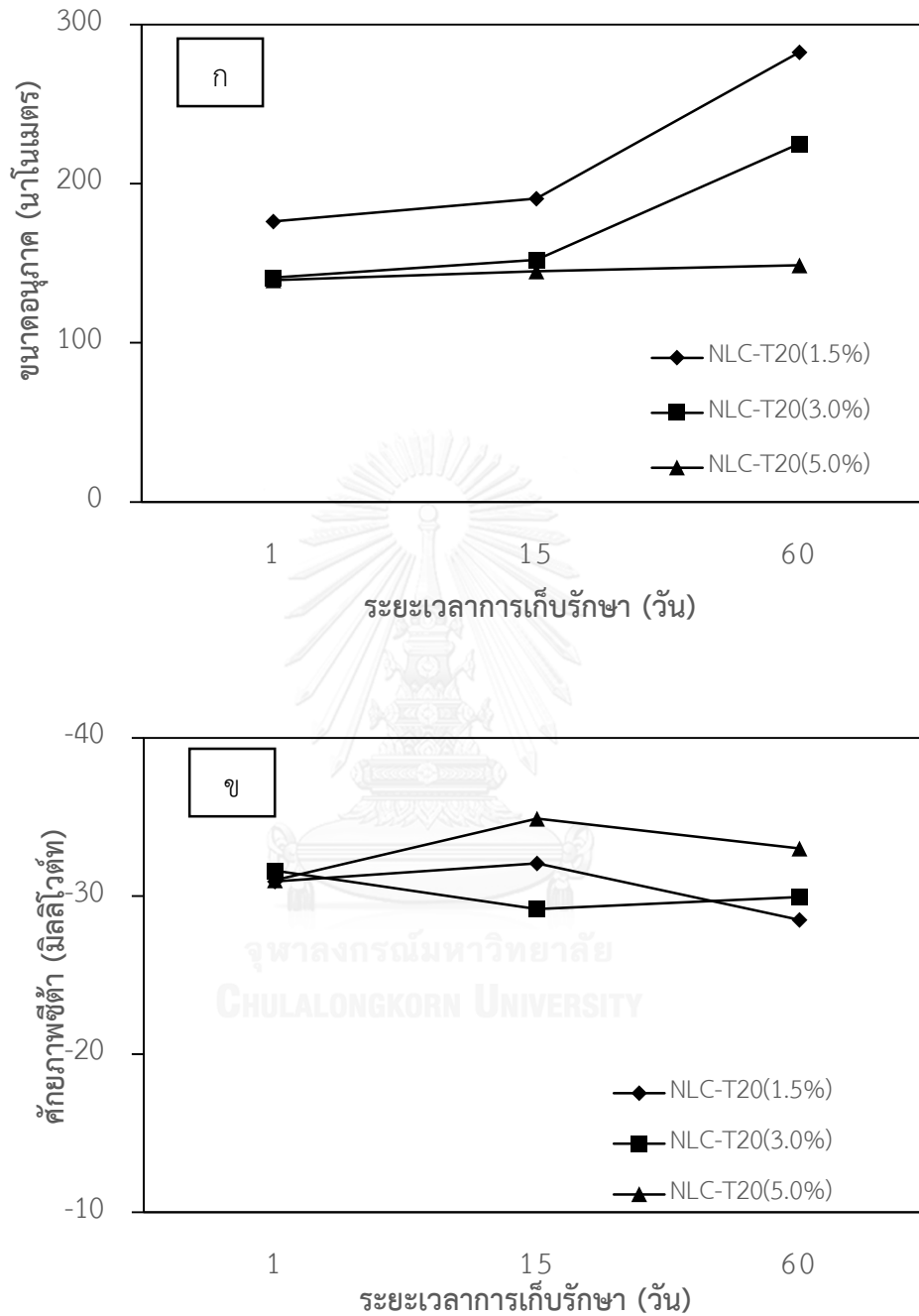
รูปที่ 4.13 การวิเคราะห์ DSC ของตัวพา NLC เมื่อแปรผันความเข้มข้นของวิตามินอีที่ 5 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์

ส่วนผสมของไขมันเงาะและกรดสเตียริกที่อัตราส่วน 1:3, 2:2 และ 3:1 ได้รับการตรวจสอบลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางความร้อนด้วยเครื่องดิฟเฟอเรนเชียลแคลอริมิเตอร์ เพื่อดูพฤติกรรมของการหลอมละลายของไขมันที่จะใช้ในการเตรียมตัวพาไขมันชนิด NLC จากการศึกษาในข้อ 4.1.4 พบว่าไขมันเงาะ (SF) มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 37.6 องศาเซลเซียสซึ่งหมายความว่าไขมันเงาะเป็นแข็งที่อุณหภูมิห้อง และหลอมเหลวที่อุณหภูมิร่างกาย เมื่อไขมันเงาะผสมกับกรดสเตียริก (SA) ที่มีจุดหลอมเหลวประมาณ 70 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วนต่างๆ พบว่าของผสมไขมัน SF:SA ที่อัตราส่วน 1:3 2:2 และ 3:1 มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 57.7 53.5 และ 47.4 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.12 สำหรับที่อัตราส่วน 3:1 อุณหภูมิที่เริ่มมีการดูดความร้อนหรืออุณหภูมิที่เริ่มมีการหลอมเหลว (onset temperature) ประมาณ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สูงกว่า 38 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นว่าของผสมของไขมันที่ใช้ในการเตรียมตัวพา NLC ยังคงเป็นของแข็งที่อุณหภูมิร่างกาย ซึ่งเป็นคุณสมบัติพื้นฐานที่จำเป็นสำหรับอนุภาค NLC [53]

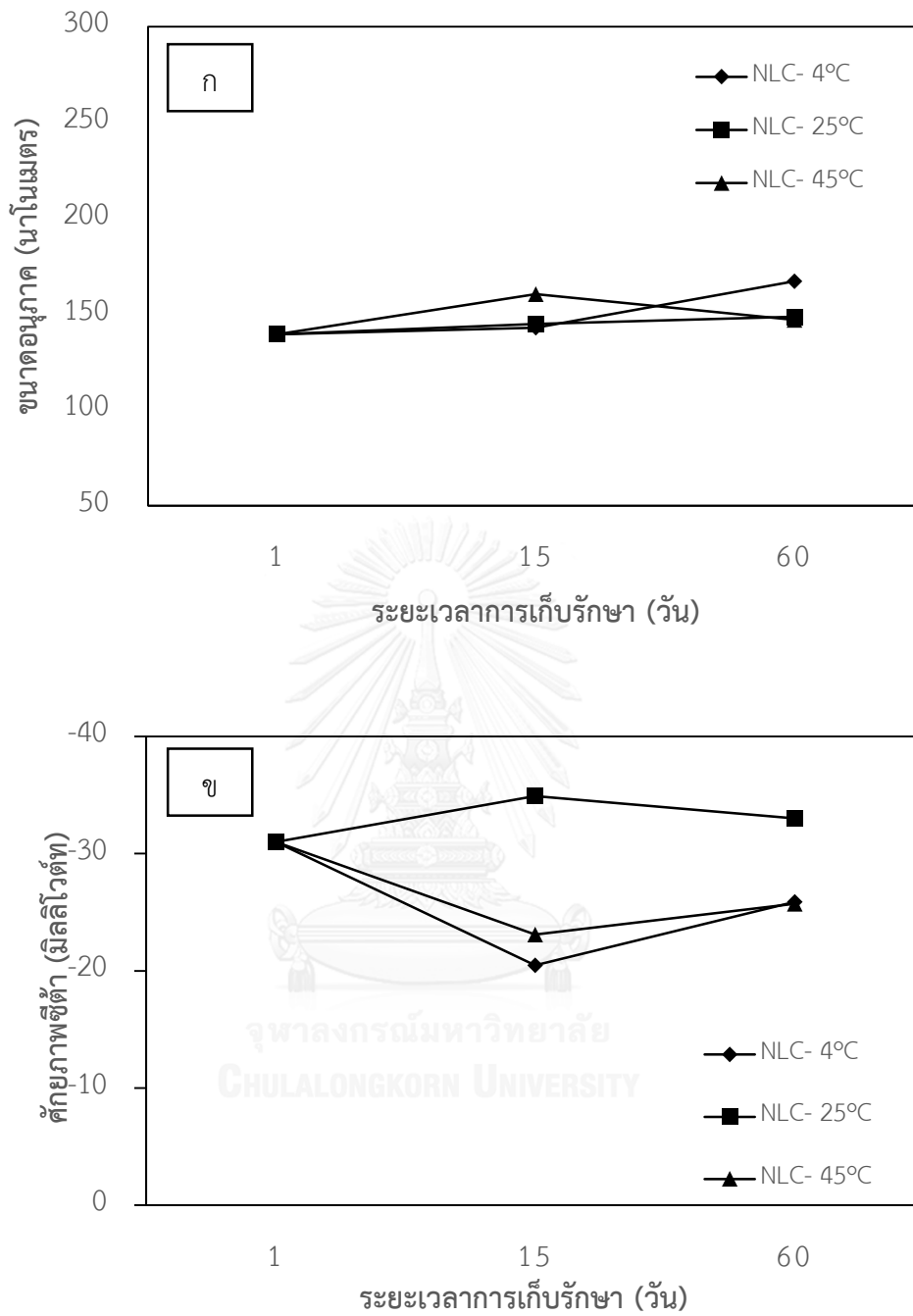
ไขมันเมล็ดเงาะและกรดสเตียริกที่อยู่ในรูปของอนุภาคนาโนชนิด NLC ที่ได้รับการวิเคราะห์โดยวิธี DSC ซึ่งข้อดีของ NLC เมื่อเทียบกับระบบคอลลอยด์อื่นๆ เช่น นาโนอิมัลชันและไลโปโซม ก็คือมีความมั่นคงของโครงสร้างเมทริกซ์ของไขมันที่ช่วยเพิ่มความมั่นคงทางกายภาพของระบบและป้องกันการเสื่อมประสิทธิภาพของสารสำคัญเนื่องจาก NLC มีสถานะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิร่างกาย ดังนั้นหลังจากการเตรียมได้เป็นอนุภาคนาโนไขมันแข็ง จึงต้องประเมินให้แน่ใจด้วยการวิเคราะห์ DSC หลังจากการเตรียมได้ 1 วัน เพื่อศึกษาการเปลี่ยนทางความร้อน (การหลอมเหลวและการตกผลึก) ของตัวพาไขมันแข็งชนิด NLC ที่เตรียมจากไขมันเงาะและกรดสเตียริก (SF และ SA) ในอัตราส่วน 3:1 จากรูปที่ 4.13 แสดงจุดหลอมเหลวของตัวพา NLC ที่ห่อหุ้มวิตามินอี 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์เท่ากับ 43.8, 43.0 และ 43.0 ตามลำดับ จะเห็นว่าปริมาณวิตามินอีที่ใส่เข้าไปในระบบไม่มีผลต่อจุดหลอมเหลวของอนุภาค NLC แต่เมื่อเปรียบเทียบจุดหลอมเหลวของ ของผสมไขมันเงาะร่วมกับกรดสเตียริก 3:1 ส่วน (bulk lipid) ในรูปที่ 4.11 และอนุภาค NLC จะพบว่าจุดหลอมเหลวของอนุภาค NLC ต่ำกว่าของผสมของไขมันที่ยังไม่ขึ้นรูปเป็นอนุภาค (ลดลงจาก 47.4 เป็น 43.0-43.8 องศาเซลเซียส) ซึ่งเป็นผลมาจากการสร้างโครงสร้างตาข่าย (lattice defects) ระหว่างไขมันเหลวและไขมันแข็งกลายเป็นเมทริกซ์ จึงส่งผลให้ความเป็นผลึกลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ bulk lipid สำหรับการเป็นผลึกที่น้อยลงหรือของแข็งมีความเป็นอสัณฐานมากขึ้นนั้น การหลอมเหลวของสารก็จะต้องการพลังงานที่เอาชนะแรงของโครงสร้างตาข่ายน้อยกว่าสารที่มีผลึกสูง [56]



#### 4.3.8 ความคงตัวของตัวพาไขมันระดับนาโน NLC



**รูปที่ 4.14** ขนาดอนุภาค (ก) และศักย์ภาพซีต้า (ข) ของตัวพา NLC (วิตามินอี 5 เปอร์เซ็นต์) ที่แปรผันความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเป็น 1 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน



รูปที่ 4.15 ขนาดอนุภาค (ก) และศักย์ภาพซีต้า (ข) ของตัวพา NLC (วิตามินอีเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์, Tween20 เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์) ที่อยู่ในสารละลายเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

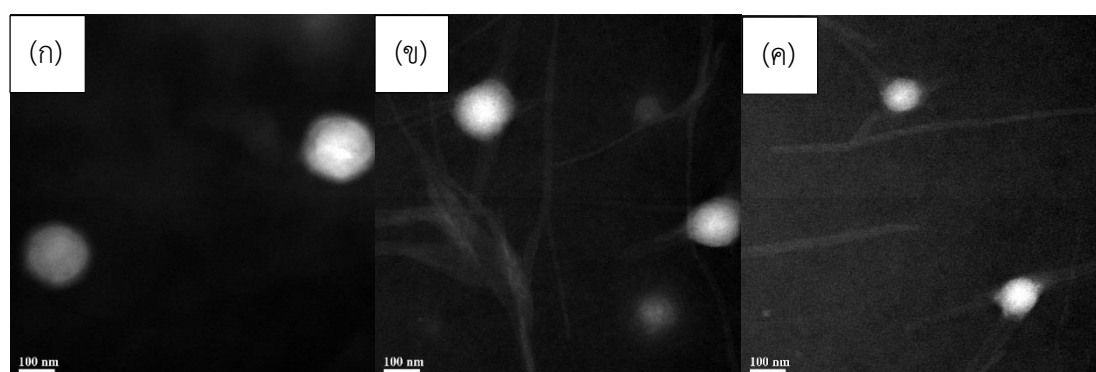
รูปที่ 4.14 เป็นผลการศึกษาความคงตัวของตัวพาไขมัน VE5%-NLC ที่เตรียมได้จากไขมันเงาะร่วมกับกรดสเตียริก ในอัตราส่วน 3:1 โดยแปรผันความเข้มข้น Tween20 ที่ 1.5, 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงขนาดอนุภาค และค่าศักย์ภาพซีต้า (ZP) ของตัวอย่างเมื่อเก็บไว้ในอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าขนาดอนุภาคของ VE5%-NLC ที่เตรียมจาก Tween 20 เข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไป แสดงถึงความเสถียรทางกายภาพของระบบเมื่อเวลาผ่านไป ในขณะที่เตรียมด้วยความเข้มข้น 1.5 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในรูปที่ 4.14(ก) และเมื่อพิจารณาที่ค่า ZP ของตัวอย่างแต่ละตัวรับพบว่าค่า ZP ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเวลาผ่านไป และมีค่าเฉลี่ยไม่ต่ำกว่า -30 มิลลิโวลต์ แสดงให้เห็นว่าระบบในการเตรียมตัวพา NLC มีความคงตัวทางกายภาพ ดังแสดงในรูปที่ 4.14(ข)

การศึกษาความคงตัวของตัวพาไขมัน VE5%-NLC ที่เตรียมได้จากไขมันเงาะร่วมกับกรดสเตียริก ในอัตราส่วน 3:1 สารละลาย Tween 20 เข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ โดยการสังเกตการเปลี่ยนแปลงขนาดอนุภาค ค่าดัชนีการกระจายตัวและค่าศักย์ภาพซีต้าของตัวอย่าง เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิที่ต่างกัน ได้แก่ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน ได้ผลดังรูปที่ 4.15(ก) จะเห็นว่าขนาดอนุภาคของตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) และเมื่อพิจารณาที่ค่าศักย์ภาพซีต้า (ZP) จะเห็นว่าสารละลายอนุภาค NLC ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีค่าศักย์ภาพซีต้าสูงกว่าตัวอย่างที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 45 องศาเซลเซียส ดังแสดงในรูปที่ 4.15(ข) ซึ่งเมื่อมองโดยภาพรวมแล้วค่า ZP มีค่าอยู่ระหว่าง -20 ถึง -35 มิลลิโวลต์ ซึ่งถือว่าสภาวะในการเตรียมตัวพาไขมัน NLC ดังกล่าวเป็นระบบที่มีความเสถียรทางกายภาพที่ดี

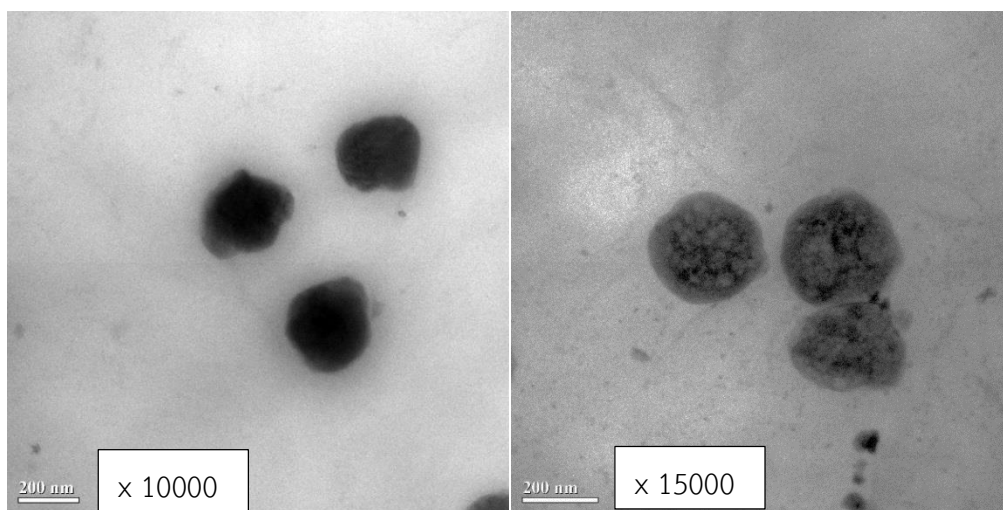
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

#### 4.3.9 ศึกษาโครงสร้างและขนาดของตัวพาไขมันระดับนาโน ด้วยเทคนิค

transmission electron microscopy (TEM)



รูปที่ 4.16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคตัวพาไขมัน NLC ที่เตรียมโดยใช้ Tween20 ความเข้มข้น 1.5% (ก) 3.0% (ข) และ 5.0% (ค) ด้วยเทคนิคแบบจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope, TEM)

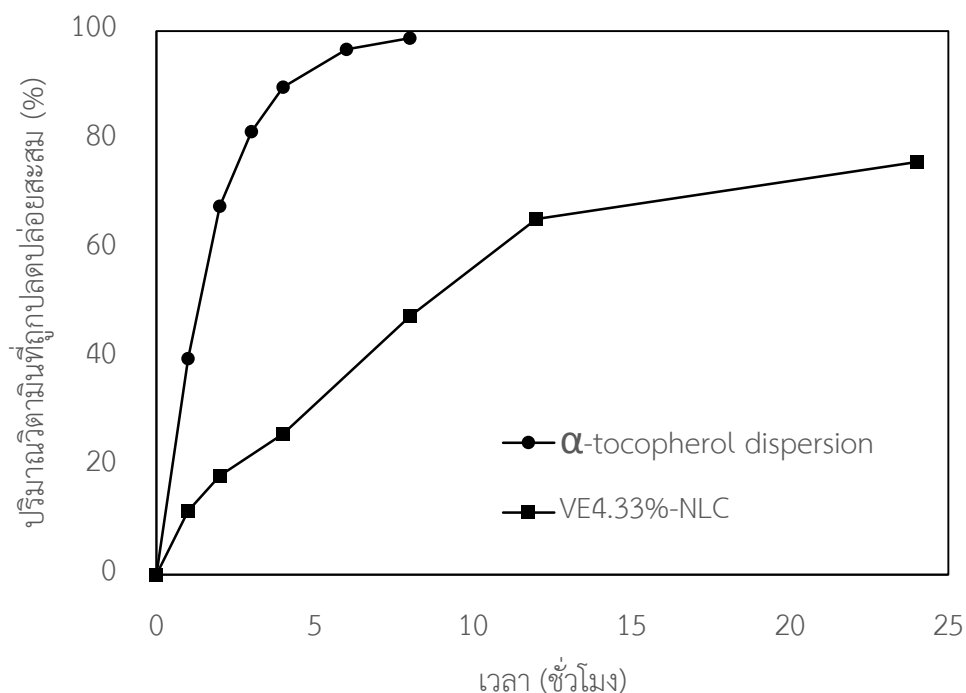


**รูปที่ 4.17** ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคตัวพาไขมัน NLC ที่เตรียมโดยใช้ Tween20 ความเข้มข้น 5% ด้วยเทคนิคแบบจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope, TEM)

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคตัวพาไขมัน NLC ที่เตรียมขึ้นจากไขมันเงาะร่วมกับกรดสเตียริกในอัตราส่วน 3:1 ห่อหุ้มวิตามินอีปริมาณ 5.0 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด โดยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TEM เป็นการยืนยันขนาดอนุภาคของอนุภาค NLC ที่เตรียมได้ จากรูปที่ 4.16 เป็นการเปรียบเทียบขนาดอนุภาค NLC ที่เตรียมจากใช้ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่แตกต่างกัน (Tween 20 ความเข้มข้น 1.5, 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์) ช่วยยืนยันว่าขนาดอนุภาคที่เตรียมได้จาก Tween20 ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดเล็กที่สุด โดยมีแนวโน้มเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Zetasizer ในการทดลองที่ 4.3.5

และจากรูปที่ 4.17 แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าอนุภาค NLC มีลักษณะเป็นทรงกลม เกิดการตกผลึกของตัวยาบนอนุภาค NLC ทำให้อนุภาคมีความเป็นอสัณฐานมากขึ้น ซึ่งการที่ตัวยาเกาะติดอยู่บนพื้นผิวเมทริกซ์ของอนุภาค NLC อาจจะอธิบายได้ด้วยความแตกต่างที่สำคัญระหว่างจุดหลอมละลายของไขมันและตัวยา [57]

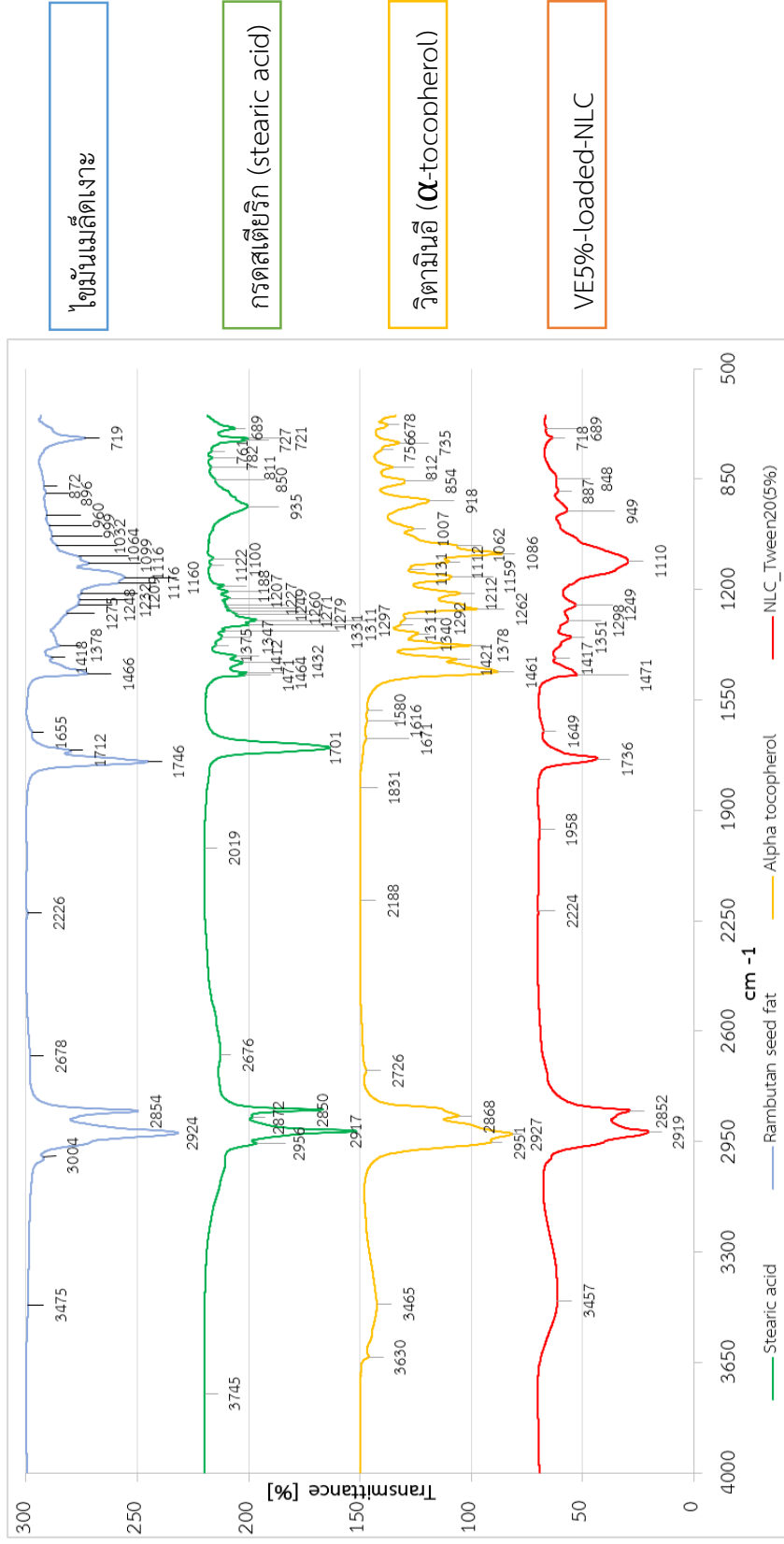
#### 4.3.10 ประสิทธิภาพการปลดปล่อยวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ของตัวพาไขมันระดับนาโน NLC



รูปที่ 4.18 ลักษณะการปลดปล่อยวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ของตัวพา NLC ที่ห่อหุ้มวิตามินอี เข้มข้น 4.33 เปอร์เซ็นต์ เทียบกับสารละลายวิตามินอี เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

การศึกษาลักษณะการปลดปล่อยวิตามินอีของตัวพา NLC ที่ทดลองในหลอดทดลอง โดยเตรียมจากไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับกรดสเตียริกที่อัตราส่วน 3:1 ด้วยวิธี melt-emulsification เทียบกับการแพร่ของสารละลายวิตามินอีบริสุทธิ์ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ได้ผลตามที่แสดงดังรูปที่ 4.18 ซึ่งจะเห็นว่าลักษณะการปลดปล่อยวิตามินอีออกจากตัวพา NLC จะช้ากว่าการแพร่ของวิตามินอีอยู่ในรูปสารละลายบริสุทธิ์ เนื่องจากวิตามินอีต้องใช้เวลาในการผ่านชั้นของไขมันที่ห่อหุ้ม โดยวิตามินอีที่อยู่ในสารละลายใช้เวลาในการปลดปล่อยผ่านถุงไตอะไลสิสอย่างรวดเร็ว สังเกตได้จากลักษณะของกราฟที่มีความชันสูง ในขณะที่การปลดปล่อยของวิตามินอีที่ถูกกักเก็บอยู่ในอนุภาคตัวพา NLC ค่อยๆปลดปล่อยออกมาอย่างช้าๆ ในระยะเวลา 24 ชั่วโมงความเข้มข้นของวิตามินอีที่ถูกปลดปล่อยสะสม 75.92 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณที่ถูกกักเก็บทั้งหมด

### 4.3.11 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของตัวพาไขมันระดับนาโนด้วยเครื่อง FT-IR spectrometer



รูปที่ 4.19 หมู่ฟังก์ชันของกรดสเตียริก ไขมันเงาะ วิตามินอี และตัวพาไขมัน NLC

ตารางที่ 4.9 ตารางสหสัมพันธ์แสดงความยาวคลื่นของแถบ IR ของหมู่ฟังก์ชันต่างๆ

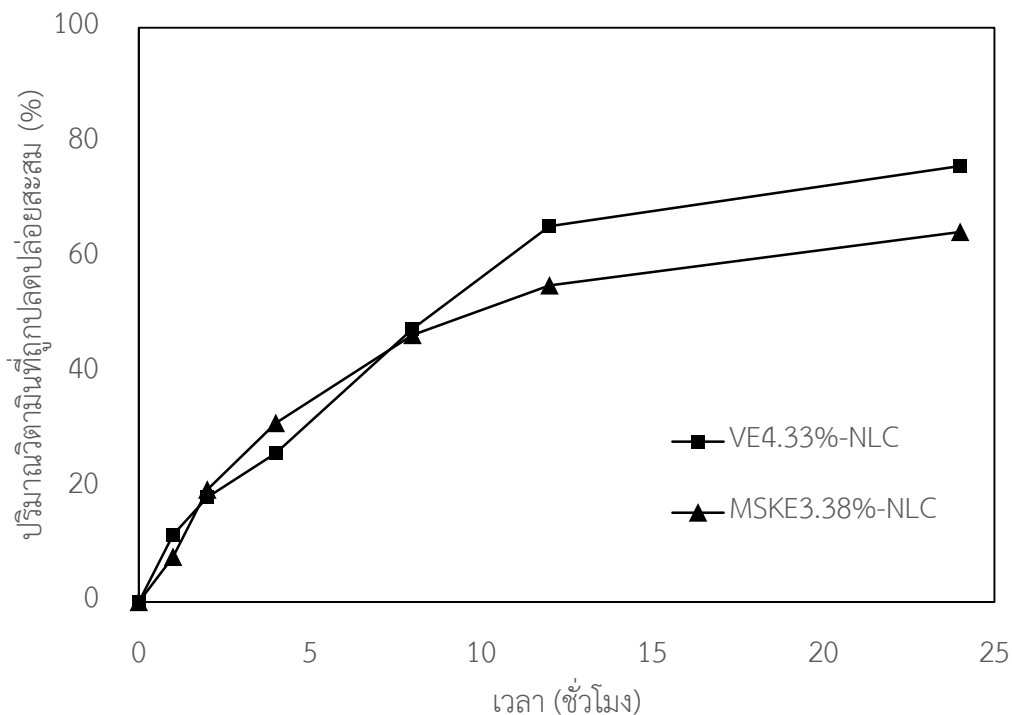
หมู่ฟังก์ชัน	( $\text{cm}^{-1}$ )	ความเข้มของการดูดกลืน
อัลเคน (Alkanes, alkyl) groups C—H	2850-2960	ความเข้มปานกลาง ถึงความเข้มสูง
อัลคีน (Alkenes) =C—H C=C	3020-3100 1640-1680	ความเข้มปานกลาง ความเข้มปานกลาง
อัลไคน์ (Alkynes) $\equiv\text{C—H}$ —C $\equiv\text{C—}$	3300 2100-2260	ความเข้มสูง ความเข้มปานกลาง
อัลคิลเฮไลด์ (Alkyl halides) C—Cl C—Br C—I	600-800 600-500 500	ความเข้มสูง ความเข้มสูง ความเข้มสูง
แอลกอฮอล์ (Alcohols) O—H C—O	3400-3650 1050-1150	ความเข้มสูง, กว้าง ความเข้มสูง
เอมีน (Amines) N—H C—N	3300-3500 1030-1230	ความเข้มปานกลาง ความเข้มปานกลาง
สารประกอบคาร์บอนิล C=O	1670-1780	ความเข้มสูง
กรดคาร์บอกซิลิก O—H	2500-3100	ความเข้มสูง, กว้างมาก
สารประกอบไนโตร $\text{NO}_2$	1540	ความเข้มสูง

การมีปฏิสัมพันธ์หรือการอยู่ร่วมกันของตัวยาได้แก่วิตามินอีกับวัตถุดิบที่ใช้ในการเตรียมตัวพาไขมัน NLC ศึกษาได้จาก FT-IR Spectroscopy จากรูปที่ 4.19 แสดงหมู่ฟังก์ชันของกรดสเตียริก (stearic acid, SA) ไขมันเมล็ดเงาะ (Rambutan seed fat, SF) วิตามินอี (Vitamin E) และตัวพาไขมัน NLC ที่ใช้ Tween20 เป็นสารลดแรงตึงผิว ปริมาณ 5.0 เปอร์เซ็นต์ แต่อัตราส่วนไขมันเมล็ดเงาะต่อกรดสเตียริก (SF:SA) เป็น 3:1 ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าอินฟราเรดสเปกตรัมของไขมันเงาะ (seed fat) เกิดแบนด์ที่มีความเข้มสูงอยู่ในตำแหน่งที่ 2854, 2924 (หมู่อัลเคน C—H stretching) และ พีคในช่วง 1670-1780 (สารประกอบคาร์บอนิล, C—O stretching) แบนด์ที่มีความเข้มปานกลางอยู่ที่ 1160  $\text{cm}^{-1}$  และเกิดแบนด์ที่มีความเข้มต่ำอยู่ในตำแหน่งที่ 1466 และ 719  $\text{cm}^{-1}$  อินฟราเรดสเปกตรัมของกรดสเตียริก (stearic acid) แบนด์ที่มีความเข้มสูงจะพบพีคที่ดูดกกลืนอยู่ในตำแหน่งที่ 2850, 2917 (หมู่อัลเคน, C—H stretching) และพีคในช่วง 1670-1780 (สารประกอบคาร์บอนิล, C—O stretching) และเกิดแบนด์ที่มีความเข้มต่ำอยู่ในตำแหน่งที่ 1464, 1297, 935 และ 721  $\text{cm}^{-1}$  อินฟราเรดสเปกตรัมของวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) เกิดแบนด์ที่มีความเข้มสูงอยู่ในตำแหน่งของหมู่อัลเคน (C—H stretching) เช่นเดียวกับไขมันเงาะและกรดสเตียริก แต่ต่างกันในความกว้างของพีคที่เกิดขึ้น (2927 และ 2868  $\text{cm}^{-1}$ ) และที่ 1461 (หมู่อัลเคน, -CH<sub>2</sub>- bending) ช่วงความเข้มปานกลางที่ 1350-1000  $\text{cm}^{-1}$  (เอมีน, C—N stretching) และช่วงที่มีความเข้มต่ำ 1000-675  $\text{cm}^{-1}$  (C=C—H, bending)

เมื่อวิตามินอีถูกบรรจุในตัวพา NLC ที่มีไขมันเงาะและกรดสเตียริกเป็นตัวห่อหุ้มจึงเกิดเป็นสเปกตรัม ดังจะให้ได้ในรูปที่ 4.19 โดยจะเห็นว่าเกิดพีคในช่วง 1350-1000  $\text{cm}^{-1}$  (เอมีน, C—N stretching) ที่พบในวิตามินอี ซึ่งเป็นพีคที่ไม่พบในไขมันเงาะและกรดสเตียริก และเกิดพีคในช่วง พีคในช่วง 1670-1780 (สารประกอบคาร์บอนิล, C—O stretching) ซึ่งเป็นพีคที่เกิดในสเปกตรัมของไขมันเมล็ดเงาะและกรดสเตียริก โดยไม่เกิดในสเปกตรัมของวิตามินอี นี่จึงช่วยยืนยันได้ว่าในอนุภาค NLC ที่เตรียมจากไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับกรดสเตียริกมีส่วนประกอบของวิตามินอีอยู่



#### 4.3.12 ลักษณะการปลดปล่อยของวิตามินอี และสารสกัดเมล็ดอ่อนมะม่วงออกจากอนุภาคตัวพาไขมันระดับนาโนเมตร (NLC)



**รูปที่ 4.20** การปลดปล่อยวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) เข้มข้น 4.33 เปอร์เซ็นต์ (VE4.33%-NLC) และ สารสกัดเมล็ดอ่อนมะม่วง (Mango seed kernel extracted) เข้มข้น 3.38 เปอร์เซ็นต์ (MSKE3.38%-NLC)

การศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญของอนุภาค NLC ที่เตรียมจากไขมันเมล็ดเงาะและกรดสเตียริกในอัตราส่วน 3:1 และใช้ Tween 20 ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ ห่อหุ้มสารสกัดเมล็ดอ่อนมะม่วง (MSKE) ซึ่งเป็นสารสำคัญชนิดที่ละลายในน้ำ และห่อหุ้มวิตามินอี (VE) ซึ่งเป็นสารสำคัญชนิดที่ละลายในน้ำมัน ผลการทดลองลักษณะการปลดปล่อยสารสำคัญแสดงดังรูปที่ 4.20 ซึ่งจะเห็นว่าอัตราการปลดปล่อยของ VE และ MSKE ออกจากอนุภาคไขมันชนิด NLC ไม่มีความแตกต่างกันในช่วงเวลา 8 ชั่วโมง โดยในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นของ VE ที่ถูกปลดปล่อยสะสม 75.92 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นของ MSKE ที่ถูกปลดปล่อยสะสม 64.42 เทียบกับปริมาณที่ถูกกักเก็บ แต่ปริมาณความเข้มข้นของ VE ที่ออกมาจะมากกว่า MSKE เนื่องจากปริมาณ VE ที่ถูกกักเก็บภายในอนุภาคมีปริมาณที่มากกว่า ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.33 เปอร์เซ็นต์ โดย MSKE ที่ถูกกักเก็บมีเพียง 3.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (เติมในสูตรที่ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์)

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

##### 5.1.1 การสกัดไขมันจากเมล็ดงา

งานวิจัยนี้มุ่งหวังเพื่อศึกษาการสกัดไขมันจากเมล็ดงาด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ (Maceration method) โดยเน้นสภาพที่จะนำไปสู่ปริมาณไขมันที่สกัดได้มากขึ้น และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดงาและไขมันงาที่สกัดได้ ผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการสกัดไขมันเมล็ดงาด้วยวิธีการสกัดแบบแช่ (maceration extraction) ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน โดยใช้เมล็ดงาขนาด 0.42-0.59 มิลลิเมตร ปริมาณ 20 กรัม แช่ในตัวทำละลายเฮกเซน 200 มิลลิลิตร พร้อมปั่นกวนตลอดระยะเวลา 4 ชั่วโมง สามารถสกัดไขมันได้มากที่สุด  $29.45 \pm 1.00$  เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง

##### 5.1.2 การเตรียมอนุภาคตัวพาไขมัน NLC จากไขมันงาร่วมกับกรดไขมันร่วม

ในงานวิจัยนี้มุ่งหวังเพื่อศึกษาการนำไขมันที่สกัดได้จากเมล็ดงามาประยุกต์ใช้ ผลิตเป็นตัวพาไขมันขนาดนาโนเพื่อห่อหุ้มวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ที่เป็นตัวแทนสารสำคัญชนิดละลายในน้ำมัน (Lipophilic drug) โดยเตรียมด้วยวิธี Melt-emulsification และการศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อคุณลักษณะของระบบตัวพา NLC พบว่าตัวแปรที่มีผลต่อระบบตัวพาไขมัน NLC ได้แก่ ชนิดไขมันแข็ง ชนิดของสารลดแรงตึงผิว อัตราส่วนของไขมันงาต่อไขมันร่วม เวลาในการโชนเคท ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว ปริมาณสารสำคัญที่ถูกห่อหุ้ม โดยตัวแปรแต่ละตัวมีผลต่อระบบตัวพาไขมัน NLC ดังนี้

1. การเตรียมตัวพา NLC ด้วยไขมันเมล็ดงาร่วม โดยแปรผันชนิดไขมันแข็งที่เป็นไขมันร่วม 3 ชนิด ได้แก่ กรดสเตียริก กรดปาล์มมิติก และซีทิลแอลกอฮอล์ เพื่อห่อหุ้มวิตามินอีที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ใช้ Tween 20 ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ และใช้เวลาในการโชนเคท 5 นาที ผลการทดลองพบว่าไขมันร่วมที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวพา NLC ร่วมกับไขมันเมล็ดงาในระบบที่ให้ตัวแปรอื่นๆคงที่ พบว่ากรดสเตียริก (stearic acid) เป็นไขมันแข็งที่เหมาะสมกับไขมันเมล็ดงามากที่สุด คือสามารถเตรียมอนุภาค NLC ที่มีขนาดอนุภาคเท่ากับ 229.2 นาโนเมตร ค่า PI

เท่ากับ 0.247 และค่า ZP เท่ากับ -31.4 มิลลิโวลต์ ซึ่งค่า PI และ ZP ดังกล่าวเป็นค่าที่บ่งบอกว่าระบบของตัวพา NLC ที่เตรียมได้มีความคงตัวทางกายภาพที่ดี

2. ในการทดลองขั้นต่อมาจึงเลือกกรดสเตียริกมาใช้ในการเตรียมตัวพา NLC ร่วมกับไขมันเงาะในอัตราส่วน 2:2 โดยน้ำหนัก ท่อหุ้มวิตามินอี 5 เปอร์เซ็นต์ และใช้เวลาในการโซนิเคท 5 นาที เพื่อศึกษาอิทธิพลของชนิดสารลดแรงตึงผิว (surfactant) โดยเปรียบเทียบสารลดแรงตึงผิวสามชนิด คือ Tween 20 Tween 80 และ Poloxamer 188 ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่า Tween 20 เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ให้ขนาดอนุภาคเล็กที่สุด 233.7 นาโนเมตร รวมทั้งให้ระบบตัวพาที่มีความเสถียรทางกายภาพที่ดีโดยพิจารณาจากค่า PI และ ZP ที่มีค่าเท่ากับ 0.257 และ -31.4 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ

3. อัตราส่วนระหว่างไขมันเงาะ (ไขมันเหลว) และกรดสเตียริก (ไขมันแข็ง) เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อขนาดอนุภาค รวมทั้งประสิทธิภาพการห่อหุ้มวิตามินอี (%Entrapment) ของตัวพา NLC ในการเตรียมจะใช้ tween 20 ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งคัดเลือกได้จากการทดลองก่อนหน้านี้ และใช้เวลาในการโซนิเคท 5 นาที โดยผลการศึกษาพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณไขมันเงาะจาก 25-100 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ขนาดอนุภาคที่ยังไม่ห่อหุ้มวิตามินอีลดลงจาก 243.2-115.7 นาโนเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับอนุภาคที่ห่อหุ้มวิตามินอี 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอนุภาคมีขนาดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย คือเมื่อเพิ่มไขมันเงาะจาก 25-100 เปอร์เซ็นต์ ขนาดอนุภาคลดลงจาก 251.8-120.9 นาโนเมตร แต่เนื่องจากการใช้ไขมันเงาะชนิดเดียวนั้นไม่สามารถนำมาใช้เตรียมอนุภาค NLC ได้ เพราะไขมันเงาะหลอมเหลวที่อุณหภูมิร่างกาย เพราะฉะนั้นจึงเลือกอัตราส่วนไขมันเงาะต่อกรดสเตียริก 3:1 (ไขมันเงาะ 75 เปอร์เซ็นต์) เพื่อใช้สำหรับการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยอื่นๆ ต่อไป

4. การเพิ่มเวลาในการโซนิเคทสารละลายอิมัลชันก่อนที่จะทำให้อนุภาคเป็นของแข็งด้วยการทำให้สารละลายเย็นตัวลงนั้น เป็นการช่วยลดขนาดอนุภาคของ NLC ในงานวิจัยนี้ทำการทดลองการเตรียมอนุภาค NLC ด้วยไขมันเงาะร่วมกับกรดสเตียริกในอัตราส่วน 3:1 โดยน้ำหนัก ท่อหุ้มวิตามินอี ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ และใช้ Tween 20 ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการโซนิเคทจาก 5 เป็น 10 นาที ทำให้อนุภาคลดลงจาก 250.0 เป็น 176.2 นาโนเมตร และเมื่อเพิ่มเวลาเป็น 20 นาที ขนาดอนุภาคที่ได้มีขนาดเท่ากับ 177.5 นาโนเมตร สรุปได้ว่าการเพิ่มเวลาในการโซนิเคทมากกว่า 10 นาทีไม่มีผลต่อขนาดอนุภาค และการเพิ่มเวลาในการโซนิเคทส่งผลให้ค่า PI ของระบบลดลงจาก 0.550-0.244 ค่า ZP ลดลงจาก -33.5 ถึง -23.8 มิลลิโวลต์

5. ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อระบบตัวพา NLC ที่เตรียมได้ โดยเตรียมในสภาวะที่คัดเลือกได้จากการทดลองก่อนหน้านี้ การทดลองนี้จึงทำการทดลอง โดยการเตรียมอนุภาค NLC ด้วยไขมันเงาะร่วมกับกรดสเตียริกในอัตราส่วน 3:1 ห่อหุ้มวิตามินอี 5.0 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลาในการโซนิเคท 10 นาที แปรผันความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้นต่างกัน จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย Tween 20 จาก 1.5-5.0 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ขนาดอนุภาคเฉลี่ยลดลงจาก 176.23-139.43 นาโนเมตร ค่า PI ลดลงจาก 0.329-0.165 ส่วนค่าศักย์ภาพซีต้าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งมีค่า -30.9 ถึง -31.0 มิลลิโวลต์

6. ปัจจัยสุดท้ายที่ทำการศึกษาคือปริมาณวิตามินอีที่ถูกห่อหุ้ม ในการทดลองนี้เตรียมอนุภาค NLC ด้วยไขมันเงาะร่วมกับกรดสเตียริกในอัตราส่วน 3:1 ใช้ tween 20 เข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ แปรผันความเข้มข้นของวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ที่ความเข้มข้นต่างกัน จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ  $\alpha$ -tocopherol จาก 5-20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าขนาดอนุภาค NLC เพิ่มขึ้นจาก 139.4-205.0 นาโนเมตร ค่า ZP ลดลงจาก -31.0 ถึง -15.4 มิลลิโวลต์

7. การศึกษาการปลดปล่อยวิตามินอี (VE) และ สารสกัดจากเมล็ดอ่อนมะม่วง (MSKE) พบว่าอัตราการปลดปล่อยของ VE และ MSKE ออกจากอนุภาค NLC ไม่มีความแตกต่างกัน

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาการเตรียมตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตร (NLC) พบว่าคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของตัวพาอยู่ในระดับที่ดี ในอนาคตน่าจะมีการนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง เช่นเป็นส่วนผสมในครีมทาผิว เป็นต้น และพัฒนาให้อนุภาค NLC มีความคงตัวในเครื่องสำอางต่อไป
2. เนื่องจากในงานวิจัยนี้ เป็นเพียงการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการเท่านั้น ในอนาคตจึงควรจะมีการพัฒนาการเตรียมให้สามารถผลิตได้ในปริมาณที่มากขึ้น

## รายการอ้างอิง

- [1] Solís-Fuentes, Julio.A.; Camey-Ortiz, Guadalupe.; Mernández-Medel, María del Rosario.; Pérez-Mendoza, Francisco.; and Durán-de-Bazúa, Carmen. Composition, phase behavior and thermal stability of natural edible fat from rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) seed. Bioresource technology 101, 2(2010): 799-803.
- [2] Harahap, Serida N.; Ramli, Nazaruddin.; Vafaei, Nazanin.; and Said, Mamot. Physicochemical and Nutritional Composition of Rambutan Anak Sekolah (*Nephelium lappaceum* L.) Seed and Seed Oil. Pakistan Journal of Nutrition 11, 11(2012): 1073-1077.
- [3] Maisuthisakul, Pitchaon.; Pasuk, Sirikarn.; and Ritthiruangdej, Pitiporn. Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. Journal of Food Composition and Analysis 21, 3(2008): 229-240.
- [4] Palanisamy, Uma.; Cheng, Hwee M.; Masilamani, Theanmalar .; Subramaniam, Thavamanithevi.; Ling, Lai T.; and Radhakrishnan, Ammu K. Rind of the rambutan, *Nephelium lappaceum*, a potential source of natural antioxidants. Food Chemistry 109, 1(2008): 54-63.
- [5] Thitilertdecha, Nont.; and Rakariyatham, Nuansri. Phenolic content and free radical scavenging activities in rambutan during fruit maturation. Scientia Horticulturae 129, 2(2011): 247-252.
- [6] Tindall, H.D. Rambutan cultivation. Food & Agriculture Org., 1994.
- [7] นัฐวี ตรีณานนท์. การศึกษาการนำเอาเมล็ดเงาะจากอุตสาหกรรมการผลิตเงาะป้องกันมาใช้ในการผลิตเป็นไบโอดีเซล. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีพลังงาน คณะพลังงานสิ่งแวดล้อมและวัสดุ มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี, 2551.
- [8] Oates, C.G.; and Powell, A.D. Bioavailability of carbohydrate material stored in tropical fruit seeds. Food chemistry 56, 4(1996): 405-414.

- [9] วรรณรดา ศิริสมพงษ์. การสกัด สมบัติทางเคมีและกายภาพของไขมันจากเมล็ดเงาะ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2553.
- [10] Huie, Carmen W. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. Analytical and bioanalytical chemistry 373, 1(2002): 23-30.
- [11] Renton, J.J.; Stiller, A.H.; and Rymer, T. Quantitative determination of the acid producing potential of toxic overburden. in Proceedings, 1984 Symposium on Surface Mining & Water Quality, Morgantown: West Virginia Surface Mining & Reclamation Association, 1984.
- [12] กานติมา จันทร์พานิช. ฟิล์มคอมโพสิตที่ย่อยสลายได้จากอัลจินตและเมล็ดขนุนที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2555.
- [13] Yoswathana, Nuttawan. Optimization of ScCO<sub>2</sub> extraction of rambutan seed oil using response surface methodology. International Journal of Chemical Engineering and Applications 4, 4(2013): 187-90.
- [14] Müller, R.H.; Petersen, R.D.; Hommos, A.; and Pardeike, J. Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. Advanced drug delivery reviews 59, 6(2007): 522-530. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- [15] Lucks, J.S.; Müller, R. H.. Medication vehicles made of solid lipid particles (solid lipid nanospheres SLN). EP0000605497 (1991).
- [16] Müller, R.H.; and Olbrich, C. Neue Adjuvantien in der Impfstofftechnologie. Pharmazeutische Biotechnologie W. Verlagsgesellschaft. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (2000): 283-302.
- [17] Müller, R.H.; Mäder, K.; Lippacher, A.; and Jennings, V. Fest-flüssig (halbfeste) Lipidpartikel (Nano-Compartment-Carrier-NCC) und Verfahren zur Herstellung hochkonzentrierter Lipidpartikel. Germany Patent DE19945203A1 (1999).
- [18] Müller, R.H.; Radtke, M.; and Wissing, S.A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. Advanced drug delivery reviews 54 (2002): S131-S155.

- [19] Selvamuthukumar, Subramanian., and Velmurugan, Ramaiyan. Nanostructured lipid carriers: a potential drug carrier for cancer chemotherapy. Lipids Health Dis 11 (2012): 159.
- [20] Hu, F.Q.; Yuan, H., Zhang, H.H.; and Fang, M. Preparation of solid lipid nanoparticles with clobetasol propionate by a novel solvent diffusion method in aqueous system and physicochemical characterization. International Journal of Pharmaceutics 239, 1(2002): 121-128.
- [21] Hu, Fu-Qiang.; Jiang, Sai-Ping.; Du, Yong-Zhong.; Yuan, Hong.; Ye, Yi-Qing.; and Zeng, Su. Preparation and characterization of stearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. Colloids and surfaces B: Biointerfaces 45, 3(2005): 167-173.
- [22] Yuan, Hong.; Wang, Lei-Lei.; Du, Yong-Zhong.; You, Jian.; Hu, Fu-Qiang.; and Zeng, Su. Preparation and characteristics of nanostructured lipid carriers for control-releasing progesterone by melt-emulsification. Colloids and surfaces B: Biointerfaces 60, 2(2007): 174-179.
- [23] Patel, Dilip.; Dasgupta, Sandipan.; Dey, Sanjay.; Ramani, Y.Roja.; Ray, Subhabrata.; and Mazumder, Bhaskar. Nanostructured lipid carriers (NLC)-based gel for the topical delivery of aceclofenac: preparation, characterization, and in vivo evaluation. Scientia pharmaceutica 80, 3(2012): 749.
- [24] Dingler, A., and Gohla, S. Production of solid lipid nanoparticles (SLN): scaling up feasibilities. Journal of microencapsulation 19, 1(2002): 11-16.
- [25] Üner, M. Preparation, characterization and physico-chemical properties of solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC): their benefits as colloidal drug carrier systems. Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences 61, 5(2006): 375-386.
- [26] Müller, R.H.; Runge, S.A.; and Ravelli, V. Pharmaceutical cyclosporin formulation of improved biopharmaceutical performance and improved physical quality and stability and process for producing same. Deutsche Patentanmeldung 198, 19(1998): 273.

- [27] Pardeike, Jana.; Hommoss, Aiman.; and Müller, Rainer H. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. International Journal of Pharmaceutics 366, 1(2009): 170-184.
- [28] Mukherjee, S.; Ray, S.; and Thakur, R. Solid lipid nanoparticles: a modern formulation approach in drug delivery system. Indian journal of pharmaceutical sciences 71, 4(2009): 349.
- [29] Müller, R.H.; Maaßen, S.; Weyhers, H.; Specht, F., and Lucks, J.S. Cytotoxicity of magnetite-loaded polylactide, polylactide/glycolide particles and solid lipid nanoparticles. International Journal of Pharmaceutics 138, 1(1996): 85-94.
- [30] Wissing, S.A.; Kayser, O., and Müller, R.H. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. Advanced drug delivery reviews 56, 9(2004): 1257-1272.
- [31] Trotta, Michele.; Debernardi, Francesca.; and Caputo, Otto. Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification–diffusion technique. International Journal of Pharmaceutics 257, 1(2003): 153-160.
- [32] สุวิมล อริยประกาย. ความคงตัวของอิมัลชันน้ำมันส้มเตรียมแบบเมมเบรนหลายชั้น. วิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยอัสสัมชัญ. 36, 2(2013): 171-183.
- [33] Mehnert, Wolfgang., and Mäder, Karsten. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. Advanced drug delivery reviews 47, 2(2001): 165-196.
- [34] Ma, Q.H.; Wang, Y.W.; Lin, X.F.; Luo, D.; and Gu, N. Preparation, characterization and photoprotection of tocopherol loaded nanostructured lipid carriers. in Complex Medical Engineering, 2007. CME 2007. IEEE/ICME International Conference on, pp. 203-208: IEEE, 2007.
- [35] Zysman, A.; Vanlerberghe, G.; and Semeria, D. Oleic acid derivatives; hair, skin lotions. 1997, Google Patents.
- [36] Borgia, S.Lombardi.; Regehlyb,M.; Sivaramakrishnanb, R.; Mehnerta, W.; Kortingc, H.C.; Dankerd, K.; Röderb, B.; Kramere, K.D.; Schäfer-Korting, M. Lipid nanoparticles for skin penetration enhancement—correlation to drug localization within the particle matrix as determined by fluorescence and parelectric spectroscopy. Journal of controlled release 110(1) (2005): 151-163.



- [37] Welters, Reiner.; Gehlhaus, Juergen.; and Moeschl, Gernot. UV absorbing cosmetic compositions. 1984, Google Patents.
- [38] Carlotti, M.; Sapino, S.; Trotta, M.; Battaglia, L.; Vione, D.; and Pelizzetti, E. Photostability and stability over time of retinyl palmitate in an O/W emulsion and in SLN introduced in the emulsion. Journal of dispersion science and technology 26, 2(2005): 125-138.
- [39] Freitas, Chrysantha., and Müller, Rainer H. Effect of light and temperature on zeta potential and physical stability in solid lipid nanoparticle (SLN™) dispersions. International Journal of Pharmaceutics 168, 2(1998): 221-229.
- [40] Siekmann, Britta., and Westesen, Kirsten. Thermoanalysis of the recrystallization process of melt-homogenized glyceride nanoparticles. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 3, 3(1994): 159-175.
- [41] Das, Surajit.; Ng, Wai Kiong.; and Tan, Reginald B.H. Are nanostructured lipid carriers (NLCs) better than solid lipid nanoparticles (SLNs): development, characterizations and comparative evaluations of clotrimazole-loaded SLNs and NLCs? European journal of pharmaceutical sciences 47, 1(2012): 139-151.
- [42] Souto, E.B.; Wissing, S.A.; Barbosa, C.M.; and Müller, R.H. Development of a controlled release formulation based on SLN and NLC for topical clotrimazole delivery. International Journal of Pharmaceutics 278, 1(2004): 71-77.
- [43] Luo, Yangchao.; Zhang, Boce.; Whent, Monica.; Yu, Liangli L.; and Wang, Qin. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of  $\alpha$ -tocopherol, and its in vitro controlled release study. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 85, 2(2011): 145-152.
- [44] นิชธิมา วารินทิพย์. ความคงตัวของสารออกฤทธิ์จากว่านนางคำที่เตรียมโดยเทคนิคการเตรียมให้อยู่ในรูปตัวพาไขมันระดับนาโนในตำรับครีม. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2552.
- [45] Xie, Shuyu.; Zhu, Luyan.; Dong, Zhao.; Wang, Xiaofang.; Wang, Yan.; Li, Xihe.; Zhou, WenZhong. Preparation, characterization and pharmacokinetics of enrofloxacin-loaded solid lipid nanoparticles: influences of fatty acids. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 83, 2(2011): 382-387.

- [46] วราภรณ์ จรรยาประเสริฐ. อิมัลชัน (Emulsions). กรุงเทพมหานคร: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2546.
- [47] Bunjes, Heike.; Westesen, Kristen.; and Koch, Michel H.J. Crystallization tendency and polymorphic transitions in triglyceride nanoparticles. International Journal of Pharmaceutics 129, 1(1996): 159-173.
- [48] Bunjes, Heike.; Koch, Michel H.J.; and Westesen, Kristen. Influence of emulsifiers on the crystallization of solid lipid nanoparticles. Journal of pharmaceutical sciences 92, 7(2003): 1509-1520.
- [49] Lippacher, A.; Müller, R.H.; and Mäder, K. Semisolid SLN™ dispersions for topical application: influence of formulation and production parameters on viscoelastic properties. European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics 53, 2(2002): 155-160.
- [50] Yuan, Hong.; Huang, Ling-Fei.; Du, Yong-Zhong.; Ying, Xiao-Ying.; You, Jian.; Hu, Fu-Qiang.; Zeng, Su. Solid lipid nanoparticles prepared by solvent diffusion method in a nanoreactor system. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 61, 2(2008): 132-137.
- [51] Han, Fei.; Li, Sanming.; Yin, Ran.; Liu, Hongzhuo.; and Xu, Lu. Effect of surfactants on the formation and characterization of a new type of colloidal drug delivery system: nanostructured lipid carriers. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 315, 1(2008): 210-216.
- [52] Landfester, Katharina.; Bechthold, Nina.; Tiarks, Franca.; and Antonietti, Markus. Formulation and stability mechanisms of polymerizable miniemulsions. Macromolecules 32, 16(1999): 5222-5228.
- [53] Gonzalez-Mira, E., Egea, M.A.; Garcia, M.L.; and Souto, E.B. Design and ocular tolerance of flurbiprofen loaded ultrasound-engineered NLC. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 81, 2(2010): 412-421.
- [54] Sanad, Rania A.; AbdelMalak, Navine S.; elBayoomy, Tahany S.; and Badawi, Alia A. Formulation of a novel oxybenzone-loaded nanostructured lipid carriers (NLCs). AAPS PharmSciTech 11, 4(2010): 1684-1694.

- [55] Alencastre, Juliana B.; Bentley, M.V.L.B.; Garcia, Fabiola S.; Moragas, Maria d.; Viladot, Joseph L.; and Marchetti, Juliana M. A study of the characteristics and in vitro permeation properties of CMC/chitosan microparticles as a skin delivery system for vitamin E. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas 42, 1(2006): 69-76.
- [56] Nayak, Aditya P.; Tiyafoonchai, Waree.; Patankar, Swati.; Madhusudhan, Basavaraj.; and Souto, Eliana B. Curcuminoids-loaded lipid nanoparticles: novel approach towards malaria treatment. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 81, 1(2010): 263-273.
- [57] Gokce, Evren H.; Korkmaz, Emrah.; Deller, Eleonora.; Sandri, Giuseppina.; Bonferoni, M Cristina.; and Ozer, Ozgen. Resveratrol-loaded solid lipid nanoparticles versus nanostructured lipid carriers: evaluation of antioxidant potential for dermal applications. International journal of nanomedicine 7 (2012): 1841.
- [58] ธนกร อำนวยกิจ. การศึกษาการซึมผ่านผิวหนังหมอนอกกายของวิตามินอี (Tocopherol) เมื่อมีแผ่นเซลล์โลสชีวภาพปิดบนผิวหนังของผิวหนัง. ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2553.



ภาคผนวก ก  
วัตถุดิบและผลิตภัณฑ์



ภาพผนวกที่ ก 1 เมล็ดเงาะหลังจากการล้างทำความสะอาดและแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออก



ภาพผนวกที่ ก 2 ไขมันเมล็ดเงาะหลังการหลอมละลาย

CHULALONGKORN UNIVERSITY



ภาพผนวกที่ ก 3 ไขมันเมล็ดเงาะเมื่อแข็งตัว

## ภาคผนวก ข

ตารางที่ ข-1 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากเมล็ดเงาะที่สกัดด้วยสารละลายเฮกเซน ในอัตราส่วน 1:7.5 โดยแปรผันขนาดเมล็ดเงาะ 4 ขนาด ระยะเวลาการสกัด 4 ชั่วโมง จากผลการทดลองในข้อ 4.1.1

ขนาดผงเมล็ดเงาะ (มิลลิเมตร)	ปริมาณผลได้ไขมันที่สกัดได้(กรัม)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
>1.68	3.684	3.819	2.743	<b>3.415</b>
0.85-1.00	4.779	4.756	4.749	<b>4.761</b>
0.42-0.59	5.684	5.632	5.490	<b>5.602</b>
<0.25	5.677	5.314	5.534	<b>5.508</b>
	ปริมาณผลได้ไขมันที่สกัดได้ (%)			
>1.68	18.42%	19.10%	18.29%	<b>18.60%</b>
0.85-1.00	23.90%	23.78%	23.75%	<b>23.81%</b>
0.42-0.59	28.42%	28.16%	27.45%	<b>28.01%</b>
<0.25	28.39%	26.57%	27.67%	<b>27.54%</b>

## วิธีการคำนวณ

$$\% \text{ผลได้ของไขมัน} = \frac{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัม)}}{\text{ปริมาณผงเมล็ดเงาะที่ใช้ในการสกัด (กรัม)}} \times 100$$

## ตัวอย่างการคำนวณ

เมื่อเราใช้ปริมาณผงเมล็ดเงาะ 20 กรัม เราสามารถสกัดไขมันออกมาได้ 5.025 กรัม

$$\% \text{ผลได้ของไขมัน} = \frac{5.025 \text{ กรัม}}{20 \text{ กรัม}} \times 100 = 25.125\%$$

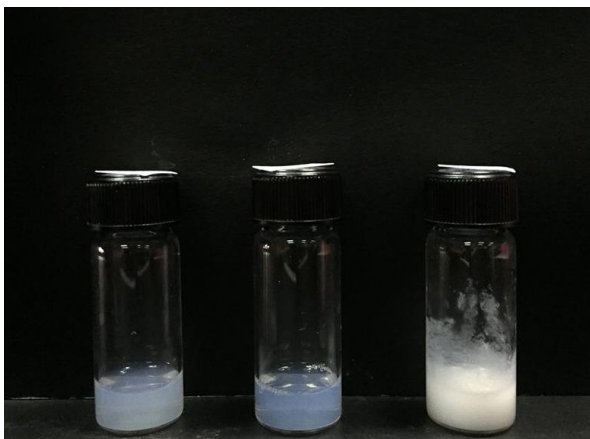
ตารางที่ ข-2 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากเมล็ดเงาะที่สกัดด้วยสารละลายเฮกเซน ในอัตราส่วน 1:7.5 ขนาดผงเมล็ดเงาะ 0.42-0.59 มิลลิเมตร โดยแปรผันเวลาในการสกัดเป็น 4 8 12 และ 24 ชั่วโมง จากผลการทดลองในข้อ 4.1.2

ขนาดผงเมล็ดเงาะ (มิลลิเมตร)	ปริมาณผลได้ไขมันที่สกัดได้(กรัม)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
4	5.684	5.632	5.490	5.602
8	5.688	5.786	5.689	5.737
12	5.708	5.785	5.765	5.753
24	5.883	5.718	5.920	5.840
	ปริมาณผลได้ไขมันที่สกัดได้ (%)			
4	28.42%	28.16%	27.45%	28.01%
8	28.44%	28.93%	28.45%	28.61%
12	28.54%	28.93%	28.83%	28.76%
24	29.42%	28.59%	29.60%	29.20%

ตารางที่ ข-3 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากเมล็ดเงาะที่สกัดด้วยสารละลายเฮกเซน โดยใช้ขนาดผงเมล็ดเงาะ 0.42-0.59 มิลลิเมตร เป็นเวลา 4 ชั่วโมง โดยแปรผันอัตราส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลายเฮกเซน เป็น 1:5 1:7.5 และ 1:10 จากผลการทดลองในข้อ 4.1.3

อัตราส่วนวัตถุดิบต่อ ตัวทำละลายเฮกเซน	ปริมาณผลได้ไขมันที่สกัดได้(กรัม)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
1:5	4.941	5.007	5.126	5.025
1:7.5	5.684	5.632	5.490	5.658
1:10	5.957	5.664	6.049	5.810
	ปริมาณผลได้ไขมันที่สกัดได้ (%)			
1:5	24.71%	25.04%	25.63%	25.12%
1:7.5	28.42%	28.16%	27.45%	28.01%
1:10	29.79%	28.32%	30.25%	29.45%

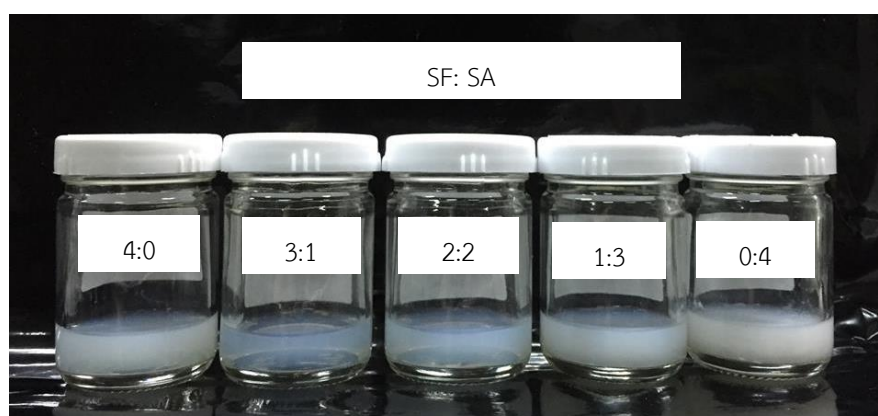
## ภาคผนวก ค



ภาพผนวกที่ ค 1 แปรผันชนิดไขมันแข็ง เซทิลแอลกอฮอล์ กรดสเตียริก และ กรดปาล์มมิติก



ภาพผนวกที่ ค 2 ภาพการรวมตัว เมื่อเตรียมด้วยไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับกรดปาล์มมิติก



ภาพผนวกที่ ค 3 สารละลายตัวพา NLC ที่เตรียมได้จากการแปรผันอัตราส่วนของไขมันเมล็ดเงาะต่อ กรดสเตียริก เท่ากับ 4:0 3:1 2:2 1:3 และ 0:4





ภาพผนวกที่ ค 4 การรวมตัวของอนุภาคในสารละลายคอลลอยด์ของตัวพา NLC ที่เตรียมจากอัตราส่วน SF:SA เท่ากับ 0:4



## ภาคผนวก ง

## ตารางผลการทดลองและวิธีการคำนวณของการเตรียมตัวพาไขมัน

ตารางที่ ง-1 ขนาดอนุภาคเฉลี่ย ,ดัชนีการกระจายตัว (PI) และ ศักยภาพซีต้า (ZP) ของอนุภาคตัวพา VE5-NLC ที่เตรียมจากไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับไขมันแข็ง 3 ชนิด ได้แก่ ซิทิลแอลกอฮอล์ กรดสเตียริก และ กรดปาล์มมิติก ที่อัตราส่วน 2:2 ห่อหุ้มวิตามินอี 5 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด และใช้ Tween 20 ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการโซนิเคท 5 นาที จากการทดลองที่ 4.3.1

ไขมันเหลว: ไขมันแข็ง		ขนาดอนุภาค เฉลี่ย (นาโน เมตร)	Polydispersity Index (PI)	Zeta Potential (มิลลิโวลต์)
SF:CA	ครั้งที่ 1	286.7	0.565	-19.6
	ครั้งที่ 2	284.2	0.513	-19.1
	ครั้งที่ 3	251.9	0.562	-20.9
	เฉลี่ย	<b>274.3±19.41</b>	<b>0.547±0.029</b>	<b>-19.9±0.9</b>
SF:SA	ครั้งที่ 1	222.6	0.256	-31.1
	ครั้งที่ 2	234.0	0.257	-31.4
	ครั้งที่ 3	231.0	0.259	-31.8
	เฉลี่ย	<b>229.2±5.90</b>	<b>0.257±0.002</b>	<b>-31.4±0.3</b>
SF:PA	ครั้งที่ 1	878.9	0.816	-28.0
	ครั้งที่ 2	844.0	0.959	-28.4
	ครั้งที่ 3	910.4	0.847	-29.6
	เฉลี่ย	<b>877.8±33.21</b>	<b>0.874±0.075</b>	<b>-28.7±0.8</b>

ตารางที่ ง-2 ขนาดอนุภาคเฉลี่ย, ดัชนีการกระจายตัว (PI) และ ศักยภาพซีต้า (ZP) ของอนุภาคตัวพา VE5-NLC ที่เตรียมจากไขมันเมล็ดเงาะร่วมกับกรดสเตียริกที่อัตราส่วน 2:2 ท่อหุ้มวิตามินอี 5 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด โดยแปรผันชนิดของสารลดแรงตึงผิว 3 ชนิด ได้แก่ Tween 20 Tween80 และ Poloxamer 188 ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการโซนิเคท 5 นาที จากการทดลองที่ 4.3.2

สารลดแรงตึงผิว		ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (นาโนเมตร)	Polydispersity Index (PI)	Zeta Potential (มิลลิโวลต์)
Tween20 (1.5%)	ครั้งที่ 1	230.6	0.257	-31.1
	ครั้งที่ 2	235.2	0.257	-31.4
	ครั้งที่ 3	235.3	0.259	-31.8
	เฉลี่ย	233.7±2.68	0.3±0.001	-31.4±0.4
Tween80 (1.5%)	ครั้งที่ 1	491.8	0.460	-27.5
	ครั้งที่ 2	482.6	0.454	-26.3
	ครั้งที่ 3	477.6	0.457	-25.3
	เฉลี่ย	484.0±7.20	0.457±0.003	-26.4±1.1
Poloxamer 188 (1.5%)	ครั้งที่ 1	430.4	0.434	-22.1
	ครั้งที่ 2	436.4	0.420	-22.5
	ครั้งที่ 3	441.0	0.441	-21.6
	เฉลี่ย	435.9±5.30	0.432±0.011	-22.1±0.4

ตารางที่ ง-3 ขนาดอนุภาคเฉลี่ย ,ดัชนีการกระจายตัว (PI) และ ศักยภาพซีต้า (ZP) ของอนุภาคตัวพาไขมันชนิด NLC ที่เตรียมจากไขมันเมล็ดเงาะ (SF) ร่วมกับกรดสเตียริก (SA) โดยแปรผันอัตราส่วน SF:SA เท่ากับ 4:0 3:1 2:2 1:3 และ 0:4 เปรียบเทียบระหว่างตัวพาที่ไม่ห่อหุ้มวิตามินอี (NLC) และตัวพาที่ห่อหุ้มวิตามินอี 5 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด (VE5-NLC) และใช้ Tween 20 ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการโซนิเคต 5 นาที จากการทดลองที่ 4.3.3

Tween20_1.5%_Drug free ( Sonicated time 5 min)				
SF:SA		ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (นาโนเมตร)	Polydispersity Index (PI)	Zeta Potential (ZP), (mV)
4:0	ครั้งที่ 1	114.1	0.397	-27.8
	ครั้งที่ 2	116.4	0.415	-26.7
	ครั้งที่ 3	116.6	0.415	-26.3
	เฉลี่ย	115.7±1.39	0.409±0.010	-26.9±0.8
3:1	ครั้งที่ 1	226.4	0.338	-32.5
	ครั้งที่ 2	210.3	0.519	-33.5
	ครั้งที่ 3	221.2	0.505	-34.5
	เฉลี่ย	219.3±8.22	0.454±0.100	-33.5±1.0
2:2	ครั้งที่ 1	222.6	0.251	-31.80
	ครั้งที่ 2	234.0	0.243	-32.5
	ครั้งที่ 3	231.0	0.247	-29.9
	เฉลี่ย	229.2±5.91	0.247±0.004	-31.4±1.3
1:3	ครั้งที่ 1	244.8	0.233	-32.20
	ครั้งที่ 2	241.0	0.219	-31.3
	ครั้งที่ 3	243.9	0.220	-31.3
	เฉลี่ย	243.2±1.98	0.224±0.008	-31.6±0.5

ตารางที่ ง-3 (ต่อ)

Tween20_1.5%_VitE5% ( Sonicated time 5 min)				
ไขมันเงาะต่อ กรดสเตียริก		ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (นาโนเมตร)	Polydispersity Index (PI)	Zeta Potential (ZP), (mV)
4:0	ครั้งที่ 1	120.9	0.292	-36.5
	ครั้งที่ 2	121.5	0.349	-37.2
	ครั้งที่ 3	120.2	0.290	-37.1
	เฉลี่ย	120.9±0.65	0.310±0.033	-36.9±0.4
3:1	ครั้งที่ 1	250.5	0.540	-33.30
	ครั้งที่ 2	245.4	0.583	-33.9
	ครั้งที่ 3	254.0	0.527	-33.4
	เฉลี่ย	250.0±4.32	0.550±0.029	-33.5±0.3
2:2	ครั้งที่ 1	230.6	0.256	-31.10
	ครั้งที่ 2	235.2	0.257	-31.4
	ครั้งที่ 3	235.3	0.259	-31.8
	เฉลี่ย	233.7±2.68	0.257±0.002	-31.4±0.4
1:3	ครั้งที่ 1	248.2	0.250	-33.20
	ครั้งที่ 2	254.6	0.221	-34.7
	ครั้งที่ 3	252.6	0.212	-34.8
	เฉลี่ย	251.8±3.27	0.228±0.020	-34.2±0.9

**ตารางที่ ๓-4** ประสิทธิภาพการกักเก็บวิตามินอีของอนุภาคตัวพา ไขมันชนิด NLC และปริมาณวิตามินที่ถูกห่อหุ้มด้วยตัวพา NLC ที่เตรียมจากไขมัน เมล็ดเงาะ (SF) ร่วมกับกรดสเตียริก (SA) โดยแปรผันอัตราส่วน SF:SA เท่ากับ 4:0 3:1 2:2 1:3 และตัวพาที่ห่อหุ้มวิตามินอี 5:0 เปอร์เซ็นต์ของไขมัน ทั้งหมด และใช้สารละลาย Tween 20 ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการโชนเคท 5 นาที จากการทดลองที่ 4.3.3

ไขมันเงาะต่อ กรดสเตียริก (SF:SA)	ค่าการดูดกลืนแสง	ความเข้มข้น วิตามินอีในตัวอย่าง 1.0 ml (mg/ml)	ความเข้มข้น วิตามินอีที่ใส่เข้าไปในระบบ 10ml (mg/ml)	น้ำหนักของ วิตามินอีที่ไม่ถูก ห่อหุ้ม (mg)	น้ำหนักของวิตามินอี ทั้งหมดที่เติมเข้าไป ในระบบทั้งหมด(mg)	%drug entrapment	%drug load
4:0	0.286	0.200	1	1.999	10	80.01	3.85
3:1	0.350	0.245	1	2.447	10	75.54	3.64
2:2	0.450	0.315	1	3.146	10	68.55	3.31
1:3	0.411	0.287	1	2.873	10	71.27	3.44

### วิธีการคำนวณ

$$\text{ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสำคัญ (E)} = \left( \frac{\text{น้ำหนักของวิตามินอีที่เติมเข้าไปในระบบทั้งหมด} - \text{น้ำหนักของวิตามินอีที่อยู่ในสารละลายส่วนใส}}{\text{น้ำหนักของวิตามินอีที่เติมเข้าไปในระบบทั้งหมด}} \right) \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของสารสำคัญที่ถูกห่อหุ้ม (L)} = \left( \frac{\text{น้ำหนักของวิตามินอีที่เติมเข้าไปในระบบทั้งหมด} - \text{น้ำหนักของวิตามินอีที่อยู่ในสารละลายส่วนใส}}{\text{น้ำหนักของวิตามินอีที่เติมเข้าไปในระบบทั้งหมด} + \text{น้ำหนักของไขมันทั้งหมด}} \right) \times 100\% \quad (2)$$

ตารางที่ ง-5 ขนาดอนุภาคเฉลี่ย ,ดัชนีการกระจายตัว (PI) และ ศักยภาพซีต้า (ZP) ของอนุภาคตัวพาไขมันชนิด NLC ที่เตรียมจากไขมันเมล็ดเงาะ (SF) ร่วมกับกรดสเตียริก (SA) ในอัตราส่วน SF:SA เท่ากับ 3:1 ห่อหุ้มวิตามินอี 5 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด (VE5-NLC) และใช้ Tween 20 ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยแปรผันเวลาในการโซนิเคตเป็น 5 10 และ 20 นาที จากการทดลองที่ 4.3.4

เวลาโซนิเคต (นาที)		ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (นาโนเมตร)	Polydispersity Index (PI)	Zeta Potential (ZP), (mV)
5	ครั้งที่ 1	250.5	0.540	-33.30
	ครั้งที่ 2	245.4	0.583	-33.9
	ครั้งที่ 3	254.0	0.527	-33.4
	เฉลี่ย	$250.0 \pm 4.32$	$0.550 \pm 0.029$	$-33.5 \pm 0.3$
10	ครั้งที่ 1	172.3	0.304	-29.3
	ครั้งที่ 2	176.2	0.373	-32.2
	ครั้งที่ 3	180.2	0.311	-31.3
	เฉลี่ย	$176.2 \pm 3.95$	$0.329 \pm 0.038$	$-30.9 \pm 1.48$
20	ครั้งที่ 1	166.9	0.616	-24.2
	ครั้งที่ 2	188.0	0.614	-23.6
	ครั้งที่ 3	177.5	0.613	-23.6
	เฉลี่ย	$177.5 \pm 10.55$	$0.614 \pm 0.002$	$-23.8 \pm 0.35$

**ตารางที่ 4-6** ประสิทธิภาพการกักเก็บวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ของอนุภาคตัวพา โยมนชนิด NLC และปริมาณวิตามินอีที่ถูกห่อหุ้มด้วยตัวพา NLC ที่เตรียมจากไขมันเมล็ดเงาะ (SF) ร่วมกับกรดสเตียริก (SA) ที่อัตราส่วน 3:1 โดยแปรผันความเข้มข้นของวิตามินอีเป็น 5 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด และใช้สารละลาย Tween 20 ที่ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ เกล็ดในการโชนเคท 10 นาที จากการศึกษาที่ 4.3.6

ปริมาณวิตามินอี	ค่าการดูดกลืนแสง	ความเข้มข้นวิตามินอีในตัวอย่าง 0.5 ml (mg/ml)	ความเข้มข้นวิตามินอีที่ใส่เข้าไปในระบบ 10ml (mg/ml)	นำหนักของวิตามินอีที่ห่อหุ้ม (mg)	นำหนักของวิตามินอีทั้งหมดที่เติมเข้าไปในระบบทั้งหมด (mg)	%drug entrapment	%drug load
5%	0.067	0.094	1	0.941	10	90.59	4.33
10%	0.134	0.357	2	3.568	20	82.16	7.59
20%	0.341	0.639	4	6.393	40	84.02	14.39

#### ตัวอย่างการคำนวณ

1. ความเข้มข้นวิตามินอีของตัวอย่าง 0.5 ml = (ความเข้มข้นที่เทียบได้จากกราฟมาตรฐาน×ปริมาตรของตัวอย่างที่เจือจางกับเมทานอล)/ปริมาตรของตัวอย่าง (สารละลายส่วนใส) =  $(0.009 \times 5) / 0.5 = 0.094$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2. นำหนักของวิตามินอีที่ห่อหุ้ม =  $0.094$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร  $\times 10$  มิลลิตรของตัวอย่างทั้งหมด =  $0.941$  มิลลิกรัม กำหนดให้  $M_1$  = นำหนักของวิตามินอีทั้งหมดที่เติมเข้าไปในระบบทั้งหมด และ  $M_2$  = นำหนักของวิตามินอีที่ไม่ถูกห่อหุ้ม
3. %drug entrapment =  $((M_1 - M_2) / M_1) \times 100\% = (10 - 0.941) / 10 \times 100\% = 90.59\%$



**ตารางที่ 4-7** ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง (Mango seed extracted) ของอนุภาคตัวพาไขมันชนิด NLC และปริมาณสารสกัดที่ถูกห่อหุ้มด้วยตัวพา NLC ที่เตรียมจากไขมันเมล็ดเงาะ (SF) ร่วมกับกรดสเตียริก (SA) ที่อัตราส่วน 3:1 โดยแปรผันความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดมะม่วง เป็น 5 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด และใช้สารละลาย Tween 20 ที่ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการวิเคราะห์ 10 นาที จาก การทดลองที่ 4.3.7

ปริมาณสารสกัด เมล็ดมะม่วง	ค่าการ ดูดกลืนแสง	ความเข้มข้นสาร สกัดที่ใส่เข้าไปใน ระบบ 10ml (mg/ml)	น้ำหนักของสารสกัด ที่ไม่ถูกห่อหุ้ม (mg)	น้ำหนักของสารสกัด ทั้งหมดที่เติมเข้าไป ในระบบทั้งหมด(mg)	%drug entrapment	%drug load
5%	0.151	2.994	1	10	70.06	3.38
10%	0.294	5.823	2	20	70.88	6.62
20%	0.389	7.707	4	40	80.73	13.90

**ตารางที่ ง-8** ขนาดอนุภาคเฉลี่ย, ดัชนีการกระจายตัว (PI) และ ศักยภาพซีต้า (ZP) ของอนุภาคตัวพาไขมันชนิด NLC ที่เตรียมจากไขมันเมล็ดเงาะ (SF) ร่วมกับกรดสเตียริก (SA) ในอัตราส่วน 3:1 โดยแปรผันปริมาณวิตามินที่ใส่เข้าไปในระบบ ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด และใช้สารละลาย Tween 20 ที่ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการโซนิเคต 10 นาที จากการทดลองที่ 4.3.6

Tween20_5%_Drug free ( Sonicated time 5 min)				
Drug loading (%)		ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (นาโนเมตร)	Polydispersity Index (PI)	Zeta Potential (ZP), (mV)
5	ครั้งที่ 1	138.1	0.169	-30.5
	ครั้งที่ 2	140.1	0.147	-31.9
	ครั้งที่ 3	140.1	0.180	-30.7
	เฉลี่ย	139.4±1.15	0.165±0.017	-31.0±0.7
10	ครั้งที่ 1	184.7	0.297	-16.7
	ครั้งที่ 2	186.3	0.284	-15.9
	ครั้งที่ 3	184.4	0.286	-16.3
	เฉลี่ย	185.1±1.02	0.289±0.007	-16.3±0.4
20	ครั้งที่ 1	204.1	0.227	-15.4
	ครั้งที่ 2	206.5	0.231	-15.1
	ครั้งที่ 3	204.4	0.209	-15.6
	เฉลี่ย	205.0±1.31	0.222±0.012	-15.4±0.2

ตารางที่ ง-9 ขนาดอนุภาคเฉลี่ย, ดัชนีการกระจายตัว (PI) และ ศักยภาพซีต้า (ZP) ของอนุภาคตัวพาไขมันชนิด NLC ที่เตรียมจากไขมันเมล็ดเงาะ (SF) ร่วมกับกรดสเตียริก (SA) ในอัตราส่วน 3:1 โดยแปรผันความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว ที่ 1.5, 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ โดยวิเคราะห์ในวันที่ 1 15 และ 60 วันหลังจากการเตรียม จากการทดลองที่ 4.3.9

SF:SA (3:1)	Tween20 (1.5%)		
	Z-Average (d.nm)	Polydispersity Index	Zeta potential
วันที่ 1	176.23	0.329	-30.93
วันที่ 15	190.57	0.515	-32.07
วันที่ 60	282.60	0.825	-28.50
	Tween20 (3.0%)		
วันที่ 1	140.95	0.332	-31.60
วันที่ 15	152.17	0.565	-29.17
วันที่ 60	225.13	0.792	-29.93
	Tween20 (5.0%)		
วันที่ 1	139.43	0.165	-31.00
วันที่ 15	144.93	0.202	-34.90
วันที่ 60	148.67	0.305	-33.00

ตารางที่ ง-10 ขนาดอนุภาค ค่าดัชนีการกระจายตัวและค่าศักยภาพซีต้าของอนุภาคตัวพา NLC ที่เตรียมจากไขมันเมล็ดเงาะ ร่วมกับกรดสเตียริก ในอัตราส่วน 3:1 โดยใช้ Tween 20 เข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 25 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

Tween 20 (5%)	วันที่ 1	139.43	0.165	-31.0
	วันที่ 15 (4 °C)	142.90	0.349	-20.47
	วันที่ 15 (25 °C)	144.93	0.305	-34.90
	วันที่ 15 (45 °C)	160.43	0.239	-23.10
	วันที่ 60 (4 °C)	167.10	0.389	-25.87
	วันที่ 60 (25 °C)	148.67	0.202	-33.00
	วันที่ 60 (45 °C)	147.07	0.063	-25.73

## ภาคผนวก จ

วิธีการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสำคัญและปริมาณการกักเก็บสารสำคัญของ  
ตัวพาไขมัน VE-NLC

## อุปกรณ์และสารเคมี

1. UV-Vis Spectrophotometer
2. เครื่อง Centrifuge
3. เครื่อง Vortex
4. Micropipette
5. Eppendorf tube
6. หลอดทดลอง
7. เมทานอล (Methanol)
8. PVDF syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

## ขั้นตอนการวิเคราะห์

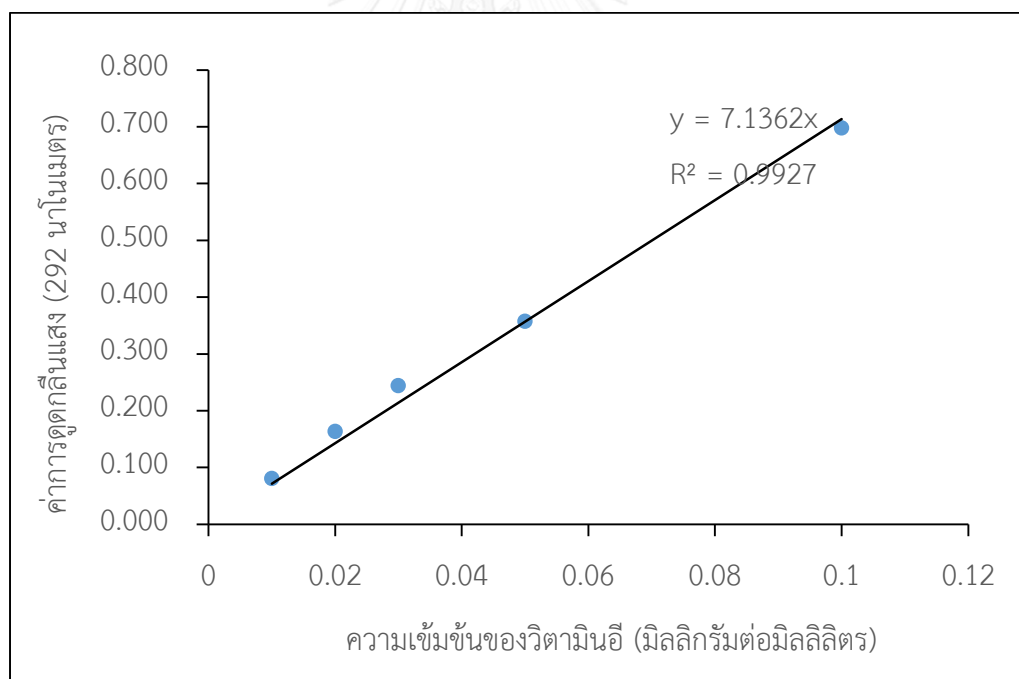
1. ดูดสารละลายตัวอย่างหลังจากการเตรียมมา 1.0 มิลลิลิตร ใส่ใน eppendorf
2. นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 15000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 45 นาที
3. ดูดสารละลายส่วนใสมา 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองแล้วเจือจางด้วยเมทานอลในอัตราส่วน 1:9 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex
4. กรองสารละลายในข้อ 3. ผ่าน PVDF syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร
5. นำสารละลายที่ได้จากข้อ 4. ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 292 นาโนเมตร
6. คำนวณผลที่ได้เทียบกับค่ามาตรฐาน

## ภาคผนวก ฉ

## กราฟมาตรฐาน

1. การสร้างกราฟมาตรฐานของวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ในตัวทำละลายเมทานอล

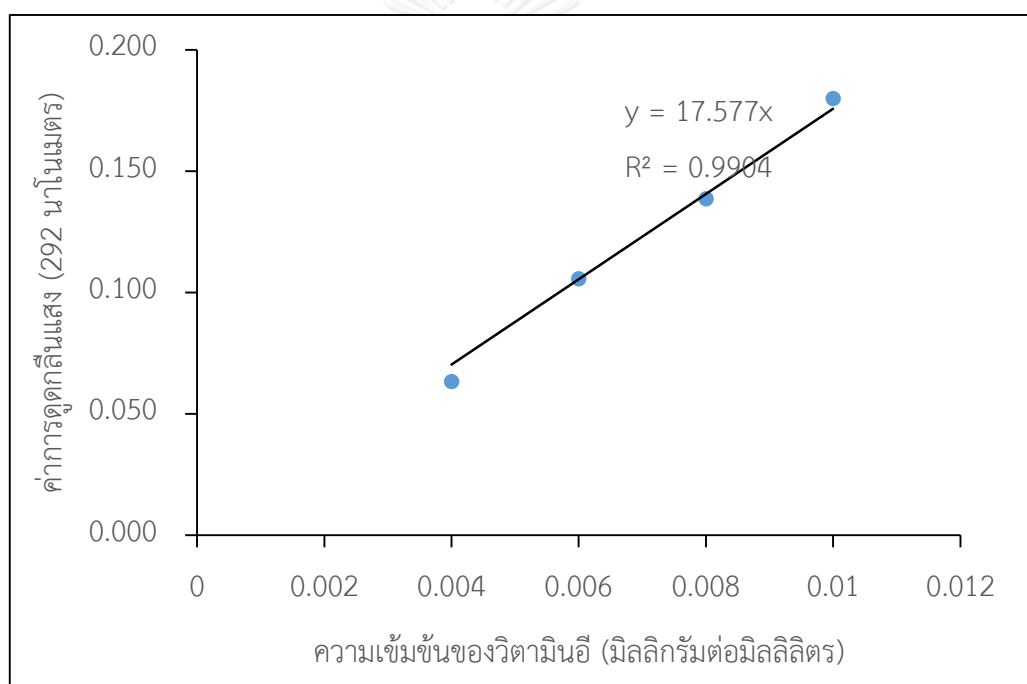
ซึ่ง  $\alpha$ -tocopherol อย่างถูกต้องแม่นยำใน weighing boat ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง 0.01 กรัม หลังจากนั้นละลายและปรับปริมาตรด้วย absolute methanol 100 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) นำมา scan หา maximum absorbance ( $\lambda_{max}$ ) โดยใช้ความยาวคลื่นช่วง 200-300 นาโนเมตร ซึ่งมีค่าเท่ากับ 292 นาโนเมตร แล้วเตรียม  $\alpha$ -tocopherol ความเข้มข้นในช่วง 10-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวัดค่า absorbance ที่ 292 นาโนเมตร แล้วนำมาเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) กับความเข้มข้นจะได้กราฟมาตรฐาน (standard curve) [58]



ภาพผนวกที่ ฉ1 กราฟมาตรฐานของวิตามินอีในตัวทำละลายเมทานอล

## 2. การสร้างกราฟมาตรฐานของวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ pH7.4

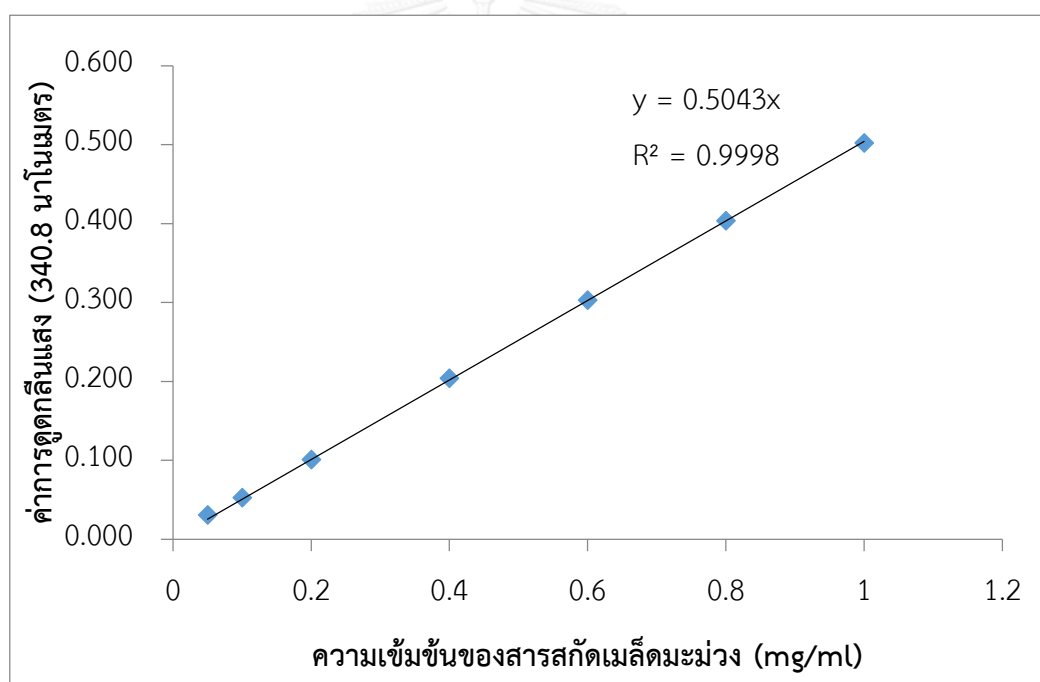
ซึ่ง  $\alpha$ -tocopherol อย่างถูกต้องแม่นยำใน weighting boat ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง 0.025 กรัม หลังจากนั้นละลายและปรับปริมาตรด้วย absolute methanol 10 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) นำมา scan หา maximum absorbance ( $\lambda_{max}$ ) โดยใช้ความยาวคลื่น 292 นาโนเมตร แล้วเตรียม  $\alpha$ -tocopherol ความเข้มข้นในช่วง 2-10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ 292 นาโนเมตร แล้วนำมาเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) กับความเข้มข้นจะได้กราฟมาตรฐาน (standard curve)



ภาพผนวกที่ ๑2 กราฟมาตรฐานของวิตามินอี  
ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน (PBS) pH 7.4

### 3. การสร้างกราฟมาตรฐานของสารสกัดเมล็ดมะม่วงในตัวอย่างละลายเมทานอล

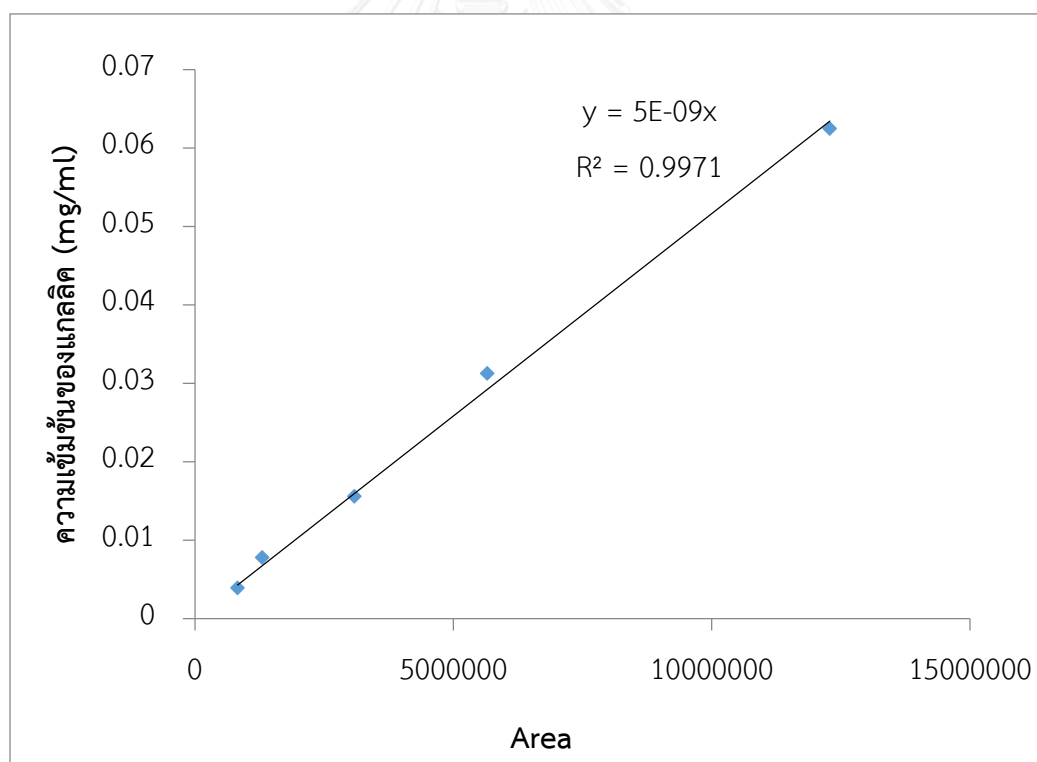
เตรียมสารละลายสต็อกของสารสกัดเมล็ดมะม่วงในเมทานอล ความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการหาค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 200-400 นาโนเมตร จะได้ค่าดูดกลืนแสง 340.8 นาโนเมตร หลังจากนั้นเตรียม สารสกัดเมล็ดมะม่วงที่ความเข้มข้น 240 120 60 30 15 7.5 3.75 และ 1.875 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ 340.8 นาโนเมตร แล้ว นำมาเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) กับความเข้มข้นจะได้กราฟมาตรฐาน (standard curve) ที่ใช้ในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัด เพื่อคำนวณค่าประสิทธิภาพในการห่อหุ้มสารสำคัญของตัวพา NLC



ภาพผนวกที่ ๓3 กราฟมาตรฐานของสารสกัดเมล็ดอ่อนมะม่วง  
ในสารละลายเมทานอล

#### 4. กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (Gallic acid)

เตรียมสารมาตรฐานแกลลิกในอะซีโตไนไตรล์ ที่ความเข้มข้น 0.003906, 0.0078125, 0.0156, 0.03125, 0.0625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วัดปริมาณ กรดแกลลิก ด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ชนิด C-18 reversed phase column (Lichrospher 100RP-18,250mm×4mm×5µm,F.merck,Darmstadt,F.R. Germany) ใช้ยูวีดีเทคเตอร์ (UV detector) ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร และใช้วัฏภาคเคลื่อนที่เป็น  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (pH 2) และ อะซีโตไนไตรล์ (ACN) โดยใช้อัตราการใช้ของวัฏภาคเคลื่อนที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้เวลา 30 นาที และใช้โปรแกรมเกรเดียนท์โดยในช่วง 0-5 นาที ใช้ ACN 20% และ  $\text{H}_3\text{PO}_4$  80% ช่วง 15-30 นาที ใช้ ACN 30% และ  $\text{H}_3\text{PO}_4$  70% แล้ว นำมาเขียนกราฟระหว่างค่า area กับความเข้มข้น จะได้กราฟมาตรฐาน (standard curve) ที่ใช้ในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัด เพื่อคำนวณความเข้มข้นของสารสกัดที่ปลดปล่อยออกจากตัวพา NLC



ภาพผนวกที่ ๑4 กราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานแกลลิก



## ภาคผนวก ข

## การปลดปล่อยวิตามินอีของตัวพาไขมันระดับนาโนเปรียบเทียบกับวิตามินอีที่ไม่ถูกห่อหุ้ม

ตารางที่ ข-1 ความเข้มข้นของวิตามินอีบริสุทธิ์ที่ปลดปล่อยผ่านถุง dialysis ที่เวลา 1 ถึง 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน (PBS) pH 7.4

ชั่วโมงที่	ค่าการดูดกลืนแสง (292 นาโนเมตร)	ความเข้มข้น (mg/ml)	ความเข้มข้น สะสม (mg/ml)	การปลดปล่อยวิตามิน อีสะสม (เปอร์เซ็นต์)
0	0	0.000	0.000	0
1	0.065	0.1104	0.1104	39.73
2	0.046	0.0779	0.1883	67.79
3	0.022	0.0381	0.2264	81.51
4	0.013	0.0228	0.2492	89.70
6	0.011	0.0193	0.2685	96.67
8	0.003	0.0057	0.2742	98.71

ตารางที่ ข-2 ความเข้มข้นของวิตามินอีที่ถูกห่อหุ้มในตัวพา NLC ที่ปลดปล่อยผ่านถุง dialysis ที่เวลา 1 ถึง 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน (PBS) pH 7.4

ชั่วโมงที่	ค่าการดูดกลืนแสง (292 นาโนเมตร)	ความเข้มข้น (mg/ml)	ความเข้มข้น สะสม (mg/ml)	การปลดปล่อยวิตามิน อีสะสม (เปอร์เซ็นต์)
1	0.013	0.000	0.000	11.73
2	0.020	0.002	0.106	18.21
4	0.028	0.003	0.165	25.93
8	0.051	0.004	0.235	47.53
12	0.071	0.007	0.431	65.43
24	0.082	0.010	0.593	75.93

## ตัวอย่างการคำนวณ

ความเข้มข้นของวิตามินอีเริ่มต้นที่อยู่ในถุง dialysis (0.28) มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นของวิตามินอีที่ถูกปลดปล่อยผ่านถุง dialysis ที่เวลา 8 ชั่วโมง (%Release-VE<sub>8</sub>)

$$\% \text{Release-VE}_8 = (0.2742/0.28) * 100 = 98.71 \%$$

**ตารางที่ ข-3** ความเข้มข้นของสารสกัดที่ถูกห่อหุ้มในตัวนา NLC ที่ปลดปล่อยผ่านถุง dialysis ที่เวลา 1 ถึง 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน (PBS) pH 7.4

เวลา (ชั่วโมง)	area	area สะสม	ความเข้มข้นใน PBS (mg/ml)	ความเข้มข้นที่ปลดปล่อย (mg/ml)	การปลดปล่อยสะสม (เปอร์เซ็นต์)
1	440843	440843	0.002	0.055	7.86
2	655501	1096344	0.005	0.137	19.56
4	651424	1747768	0.009	0.218	31.18
8	858348	2606116	0.013	0.326	46.50
12	483173	3089289	0.015	0.386	55.12
24	521882	3611171	0.018	0.451	64.43

#### ตัวอย่างการคำนวณ

ความเข้มข้นของสารสกัดเริ่มต้นที่อยู่ในถุง dialysis (0.70) มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นของวิตามินอีที่ถูกปลดปล่อยผ่านถุง dialysis ที่เวลา 24 ชั่วโมง (%Release-สารสกัด<sub>24</sub>)

$$\% \text{Release-สารสกัด}_{24} = (0.451/0.70) * 100 = 64.43 \%$$

**ภาคผนวก ซ**  
**สารละลายบัฟเฟอร์**

**1. การเตรียมสารละลาย Sodium acetate buffer 0.1 โมลาร์ (pH 5.5)**

- 1.1 ชั่ง Sodium acetate 8.203 กรัม
- 1.2 ละลาย Sodium acetate ด้วยน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 5.5 ด้วยสารละลายกรดอะซิติก (Acetic acid) เข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

**2. การเตรียมสารละลาย Phosphate Buffer Saline 1X (PBS) pH 7.4**

2.1	ชั่งสาร	
	NaCl	0.80 มิลลิกรัม
	KCl	0.02 มิลลิกรัม
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.14 มิลลิกรัม
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.024 มิลลิกรัม

- 2.2 ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH 7.4 ด้วย NaOH 1 นอร์มัล หรือ HCl ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรจนครบ 1000 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวขวัญศิริ อุไรวรรณ เกิดเมื่อวันที่ 27 กรกฎาคม พ.ศ. 2534 จังหวัดชลบุรี สำเร็จ การศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนชลกันยานุกูล จังหวัดชลบุรี เมื่อปี พ.ศ. 2552 หลังจากนั้นได้รับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ปี พ.ศ. 2556 และได้ศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2556

บทความที่ได้รับการตีพิมพ์

Kwansiri Uraiwan and Chutimon Satirapipathkul. “Nanostructured lipid carriers production from rambutan seed fat”. Academic Science and Technology Conference 2015. วันที่ 28-29 พฤษภาคม 2558 ณ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย กรุงเทพฯ ประเทศไทย

Kwansiri Uraiwan and Chutimon Satirapipathkul. “The entrapment of vitamin E in nanostructured lipid carriers of rambutan seed fat for cosmeceutical uses”. 2nd International Conference on Applied Physics and Material Applications (ICAPMA2015). วันที่ 28-29 พฤษภาคม 2558 มหาวิทยาลัยราชภัฏ สอนสุนันทา กรุงเทพฯ ประเทศไทย