

ผลของสารทำอิมัลชันต่อ
คุณสมบัติและความคงตัวของแอสตาแซนทีนนาโนอิมัลชันสำหรับรับประทาน



สารนิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง ภาควิชาวิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรม

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2563

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF EMULSIFIERS ON
PROPERTIES AND STABILITY OF ORAL ASTAXANTHIN NANOEMULSION



An Independent Study Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Cosmetic Science
Department of Pharmaceutics and Industrial Pharmacy
FACULTY OF PHARMACEUTICAL SCIENCES
Chulalongkorn University
Academic Year 2020
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อสารนิพนธ์	ผลของสารทำอิมัลชันต่อคุณสมบัติและความคงตัวของ
	แอสตาแซนทีนนาโนอิมัลชันสำหรับรับประทาน
โดย	น.ส.พรรณรัตน์ นงนวล
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกษ์ชกรหญิง ดร.ดุษฎี ชาญวานิช

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับสารนิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบสารนิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ เกษ์ชกรหญิง ดร.พรเพ็ญ วีระวัฒกานนท์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกษ์ชกรหญิง ดร.ดุษฎี ชาญวานิช)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกษ์ชกรหญิง ร.ต.ท.หญิง ดร.วัลย์ศิริ ม่วงศิริ)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

พรรณรัตน์ นงนวล : ผลของสารทำอิมัลชันต่อคุณสมบัติและความคงตัวของแอสตาแซนทีนนาโนอิมัลชันสำหรับรับประทาน. (EFFECTS OF EMULSIFIERS ON PROPERTIES AND STABILITY OF ORAL ASTAXANTHIN NANOEMULSION) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. ภญ. ดร.ดุชนฎี ชาญวานิช

แอสตาแซนทีนเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีฤทธิ์แรงซึ่งมีผลิตภัณฑ์จำหน่ายในรูปแบบเม็ดและแคปซูลสำหรับรับประทาน อย่างไรก็ตาม แอสตาแซนทีนมีข้อจำกัดด้านการดูดซึมเข้าสู่ทางเดินอาหาร จึงมีการนำระบบนาโนอิมัลชันมาใช้ในการพัฒนาเป็นระบบนำส่งแอสตาแซนทีน โดยทำการศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันต่อคุณสมบัติและความคงตัวของตำรับแอสตาแซนทีนนาโนอิมัลชันชนิดรับประทาน โดยใช้ไขมันรำข้าว และใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว (โซเดียมเคซิเนต 1, 3, 5% หรือ พอลิซอร์เบต 80 4, 6, 8%) และใช้สารทำอิมัลชันผสมทั้งสองชนิด ผลการศึกษาพบว่า ขนาดหยดอนุภาคของตำรับนาโนอิมัลชันเปล่าที่ใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยวโซเดียมเคซิเนตใหญ่กว่าตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยวพอลิซอร์เบต 80 และการเพิ่มความเข้มข้นของพอลิซอร์เบต 80 ส่งผลให้ขนาดหยดอนุภาคภายในลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) สำหรับตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันผสม การเพิ่มความเข้มข้นของสารทำอิมัลชัน ทำให้ขนาดหยดอนุภาคภายในมีขนาดเล็กลงและมีค่าศักย์ไฟฟ้าซีต่าอยู่ระหว่างการใส่สารทำอิมัลชันเดี่ยว 2 ชนิด จากการศึกษาความคงตัวทางกายภาพภายใต้สภาวะเร่งร้อน-เย็น จำนวน 6 รอบ พบว่า ทุกตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยวและตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันผสมที่มีโซเดียมเคซิเนต 1% มีความคงตัวทางกายภาพที่ดี จากนั้น เลือกใช้สารทำอิมัลชันที่ความเข้มข้นน้อยที่สุดและให้ความคงตัวที่ดีนำมาเตรียมนาโนอิมัลชันที่บรรจุแอสตาแซนทีน โดยเลือกใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว 1% โซเดียมเคซิเนต, 4% พอลิซอร์เบต 80 และสารทำอิมัลชันผสมทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นเดียวกัน จากการศึกษาความคงตัวทางกายภาพและเคมี ที่อุณหภูมิ 5 °C และ 25 °C เป็นเวลา 100 วัน พบว่า ที่อุณหภูมิ 5 °C ตำรับแอสตาแซนทีนนาโนอิมัลชันมีความคงตัวทางเคมีดีกว่าที่อุณหภูมิ 25 °C และตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันผสมมีความคงตัวทางเคมีดีกว่าตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยวโซเดียมเคซิเนต และพอลิซอร์เบต 80 ตามลำดับ ผลการศึกษาที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาระบบนำส่งแอสตาแซนทีนในรูปแบบนาโนอิมัลชันสำหรับรับประทานต่อไป

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
ปีการศึกษา 2563

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

6176257333 : MAJOR COSMETIC SCIENCE

KEYWORD: astaxanthin, nanoemulsion, polysorbate 80, sodium caseinate, stability

Punnarut Nongnuan : EFFECTS OF EMULSIFIERS ON PROPERTIES AND STABILITY OF ORAL ASTAXANTHIN NANOEMULSION. Advisor: Asst. Prof. Dusadee Charnvanich, Ph.D.

Astaxanthin is a potent antioxidant that is available in forms of tablets and capsules for oral administration. However, astaxanthin has limitations in its absorption into the gastrointestinal tract. Therefore, the nanoemulsion was used to develop astaxanthin delivery systems. This research is to investigate the effects of emulsifier types and concentrations on the properties and stability of astaxanthin nanoemulsion. The nanoemulsions were formulated by applying rice bran oil and either single emulsifier (1,3,5% sodium caseinate (SC) or 4,6,8% polysorbate 80 (PS80)) or mixed emulsifiers. The result indicated that the droplet size of nanoemulsions with SC was larger than PS80. The PS80 concentration resulted in a significant decrease in the droplet size. For the formulations with mixed emulsifiers, the increase of the concentration of emulsifiers led to the decrease in the droplet size and their negative charge values were ranged between those of nanoemulsions with single SC and PS80. All formulations with a single emulsifier were physically stable under heating-cooling six cycles, whereas the nanoemulsions with mixed emulsifiers showed a good stability for only those with the 1%SC concentration. Therefore, a single emulsifier of 1%SC, 4%PS80 and mixed emulsifiers as the same concentration were selected to develop nanoemulsions containing astaxanthin. The physical and chemical stabilities were studied at 5°C and 25°C for 100 days. It was found that astaxanthin nanoemulsions at 5°C demonstrated better chemical stability than 25°C. Chemical stability of astaxanthin nanoemulsions with mixed emulsifiers was better than single emulsifier of SC and PS80, respectively. The findings of this study could be further applied to develop oral delivery system of astaxanthin nanoemulsions.

Field of Study: Cosmetic Science

Student's Signature

Academic Year: 2020

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

เอกัตศึกษานี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีจากความกรุณาของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เกษ์ชกรหญิง ดร.ดุชฎี ชาญวานิช อาจารย์ที่ปรึกษาเอกัตศึกษา ผู้ซึ่งให้ทั้งความรู้ ความเมตตา ความเข้าใจ และกำลังใจที่ดีตลอดการค้นคว้าวิจัย อีกทั้งยังช่วยแก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่างๆในระหว่างการทำวิจัยจนผ่านมาได้ด้วยดี

ขอขอบคุณศาสตราจารย์ เกษ์ชกรหญิง ดร.กาญจน์พิมล ฤทธิเดช และ อาจารย์ เกษ์ชกร ดร.วีระเกียรติ บุญกนกวงศ์ สำหรับความอนุเคราะห์สาร astaxanthin ตลอดการศึกษาวิจัย

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนงานวิจัยจากหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง และคณาจารย์ทุกท่านในภาควิชาวิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรมที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และถ่ายทอดประสบการณ์อันเป็นประโยชน์แก่ข้าพเจ้า ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ในการทำเอกัตศึกษานี้

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณครอบครัว รวมถึงผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน สำหรับความช่วยเหลือและกำลังใจที่ดีเสมอมา

พรรณรัตน์ นงนวล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญ

	หน้า
.....	ค
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ.....	ฎ
สารบัญคำย่อ.....	ฐ
บทที่ 1	1
บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
กรอบแนวคิดการวิจัย.....	5
บทที่ 2	6
ปริทัศน์วรรณกรรม.....	6
2.1 คุณสมบัติของ astaxanthin	6
2.1.1 ข้อมูลทั่วไปของ astaxanthin	6
2.1.2 กระบวนการย่อย การดูดซึม และขนส่งสาร astaxanthin.....	7
2.1.3 ฤทธิ์ทางชีววิทยาของ astaxanthin.....	11
2.1.4 ความไม่คงตัวของ astaxanthin.....	12

2.2 Astaxanthin ในระบบนำส่งนาโนอิมัลชัน.....	14
2.2.1 ระบบนำส่งนาโนอิมัลชัน.....	14
2.2.2 คุณสมบัติของวัสดุภาคน้ำมัน.....	16
2.2.3 คุณสมบัติของสารทำอิมัลชัน.....	18
บทที่ 3	21
ระเบียบวิธีวิจัย	21
3.1 สารเคมี เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	21
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย.....	22
3.2.1 การเตรียมตำรับนาโนอิมัลชัน (Blank nanoemulsion)	22
3.2.2 การประเมินตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า.....	23
3.2.3 การวิเคราะห์ astaxanthin ด้วยวิธี UV-VIS Spectrophotometry	25
3.2.4 การศึกษาความสามารถในการละลายของ astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว	26
3.2.5 การศึกษาผลของการเตรียมด้วยเครื่อง Microfluidizer™ ต่อความคงตัวของ astaxanthin.....	26
3.2.6 การเตรียมตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin.....	26
3.2.7 การประเมินตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin	28
3.3 สถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล.....	30
บทที่ 4	31
ผลการวิจัย.....	31
4.1 การประเมินสูตรตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า.....	31
4.1.1 ลักษณะทางกายภาพ	31
4.1.2 ความคงตัวของกายภาพ	35
4.2 การศึกษาความสามารถในการละลายของ astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว.....	37

4.3 การศึกษาผลของการเตรียมด้วยเครื่อง Microfluidizer™ ต่อความคงตัวของ astaxanthin	38
4.4 การประเมินสูตรตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin	39
4.4.1 ลักษณะทางกายภาพ	39
4.4.2 ความคงตัวของทางกายภาพ	43
4.4.3 ความคงตัวของเคมี	45
4.4.3.1 ผลของสภาวะการเก็บรักษาต่อความคงตัวของตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin	45
4.4.3.2 ผลของสารทำอิมัลชันต่อความคงตัวของตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin	46
บทที่ 5	52
สรุปผลการวิจัย	52
ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม	53
บรรณานุกรม	54
ภาคผนวก ก	58
การวิเคราะห์ astaxanthin ด้วยวิธี UV/VIS spectrophotometry	58
ภาคผนวก ข	61
ข้อมูลการประเมินความคงตัวของทางกายภาพและทางเคมีของตำรับนาโนอิมัลชัน	61
ภาคผนวก ค	88
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	88
1. ตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า	88
1.1 ลักษณะทางกายภาพ	88
1.2 ความคงตัวของทางกายภาพ	110
2. ตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin	113
2.1 ความคงตัวของทางกายภาพ	114

2.2 ความคงตัวทางเคมี	119
ประวัติผู้เขียน	146



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณการดูดซึม astaxanthin เข้าสู่กระแสเลือดของแต่ละตำรับ (Odeberg et al., 2003).....	9
ตารางที่ 2 แสดงองค์ประกอบและวิธีการเตรียมตำรับ astaxanthin ของแต่ละสูตรตำรับ (Affandi et al., 2012).....	10
ตารางที่ 3 แสดงค่า C_{max} , $AUC_{0-\infty}$ และ t_{max} ของแต่ละสูตรตำรับ (Affandi et al., 2012).....	11
ตารางที่ 4 แสดงปริมาณ tocopherol และ phenolic ในน้ำมันชนิดต่างๆ (Rao et al., 2007)...	17
ตารางที่ 5 แสดงปริมาณสารเคมีที่ใช้ในสูตรตำรับนาโนอิมัลชัน.....	24
ตารางที่ 6 แสดงปริมาณส่วนประกอบที่ใช้ในสูตรตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin.....	27
ตารางที่ 7 แสดงความสามารถในการละลายของ astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว (ค่าเฉลี่ย \pm SD, n = 3).....	38
ตารางที่ 8 แสดงปริมาณ astaxanthin เปรียบเทียบก่อนและหลังผ่านเครื่อง Microfluidizer (ค่าเฉลี่ย \pm SD, n = 3).....	39
ตารางที่ 9 แสดงคุณลักษณะของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่าและที่บรรจุ astaxanthin หลังจากเตรียมเสร็จและเก็บไว้ที่สภาวะที่ศึกษาความคงตัวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ค่าเฉลี่ย \pm SD, n = 3).....	40
ตารางที่ 10 แสดงปริมาณ astaxanthin (%w/v) และ % Labeled amount ของนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin หลังจากเตรียมเสร็จและเก็บไว้ที่สภาวะที่ศึกษาความคงตัวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ค่าเฉลี่ย \pm SD, n = 3).....	42

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะโครงสร้างของ astaxanthin (Ciapara et al., 2006).....	6
ภาพที่ 2 แสดงการเชื่อมต่อของสาร astaxanthin ระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ (Eiji, 2013) ...	7
ภาพที่ 3 แสดงค่า Turbiscan stability index ของตำรับนาโนอิมัลชันที่ใช้สารทำอิมัลชันผสม sodium caseinate : polysorbate 80 ที่อัตราส่วนต่างๆ (Du et al., 2018).....	20
ภาพที่ 4 แสดงลักษณะปรากฏของตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันชนิดและความเข้มข้นต่างๆ	31
ภาพที่ 5 แสดงคุณลักษณะของตำรับนาโนอิมัลชันที่เตรียมด้วยชนิดและความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันต่างๆ (a) ขนาดอนุภาค (b) zeta-potential (c) viscosity	34
ภาพที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบ (a) ขนาดอนุภาค (b) PDI (c) zeta potential ของนาโนอิมัลชันที่เตรียมด้วยชนิดและความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันต่างๆ ก่อนและหลังการเก็บภายใต้สภาวะ heating-cooling cycle นาน 6 รอบ (* แสดงค่าการเปลี่ยนแปลง เมื่อ $p < 0.05$).....	36
ภาพที่ 7 แสดงลักษณะของตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin ที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ เปรียบเทียบ (a) ก่อน และ (b) หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน	41
ภาพที่ 8 แสดง (a) ขนาดอนุภาค (b) PDI และ (c) zeta potential ของนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin ที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ เปรียบเทียบก่อนและหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน (*ตำรับที่ใช้ PS80 เกิดการแยกชั้น วันที่ 64 ของการศึกษาความคงตัว, **แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$).....	43
ภาพที่ 9 แสดง % astaxanthin คงเหลือ ในตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ หลังศึกษาความคงตัวที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน	45
ภาพที่ 10 แสดง % astaxanthin คงเหลือในตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน (*ตำรับ 4% PS80 เกิดการแยกชั้น วันที่ 64 ของการศึกษาความคงตัว **ค่าการดูดกลืนแสงอยู่นอกช่วงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง)	47

ภาพที่ 11 แสดงค่าคงที่อัตราการสลายตัวของ astaxanthin ในตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน (*ตำรับ 4% PS80 เกิดการแยกชั้น วันที่ 64 ของการศึกษาความคงตัว **ค่าการดูดกลืนแสงอยู่นอกช่วงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง)..... 48

ภาพที่ 12 แสดง % astaxanthin คงเหลือในตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน 49

ภาพที่ 13 แสดงอัตราการสลายตัวของ astaxanthin ในตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน 49



สารบัญย่อ

Abs	=	absorbance
ANOVA	=	analysis of variances
Axt	=	Astaxanthin
Conc.	=	concentration
cP	=	centipoises (s)
DMSO	=	dimethyl sulfoxide
g	=	gram (s)
min	=	minute (s)
mL	=	milliliter (s)
mm	=	millimeter (s)
mV	=	millivolts (s)
nm	=	nanometer (s)
pH	=	the negative logarithm of hydrogen ion concentration
PS80	=	polysorbate 80
RBO	=	rice bran oil
rpm	=	revolution per minute
SC	=	sodium caseinate
SD	=	standard deviation
w/v	=	weight by volume
μg	=	microgram (s)
μm	=	micrometer (s)

บทที่ 1

บทนำ

สารแอสตาแซนทีน (astaxanthin) เป็นสารที่สกัดได้จากสาหร่ายเซลล์เดียว *Haematococcus pluvialis* มีลักษณะเป็นผง สีส้มถึงแดง ละลายน้ำน้อยแต่ละลายได้ดีในน้ำมัน (Zuluaga et al., 2018) มีลักษณะโครงสร้างเป็น ionone 2 วงที่เชื่อมต่อกันด้วยสายพันธะคู่สลับกับพันธะเดี่ยว จากลักษณะโครงสร้างจึงทำให้ astaxanthin สามารถรับและเปลี่ยนสารอนุมูลอิสระให้เป็นอนุพันธ์ที่มีความคงตัวได้ (Ambati et al., 2014) จึงมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ 10 เท่า และ 100 เท่าเมื่อเทียบกับ α -tocopherol จากหลายการศึกษาแสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ทางชีววิทยาที่น่าสนใจ ในการป้องกันการเกิดมะเร็งโดยการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง การป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจโดยการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL ที่นำไปสู่การเกิดภาวะโรคหลอดเลือดอุดตัน (arteriosclerosis) สามารถรักษาแผลในกระเพาะอาหารได้โดยการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Helicobacter Pylori* สามารถช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้โดยกระตุ้นการสร้าง T-helper cell antibody และเพิ่มจำนวน antibody secretory cells (Higuera-Ciapara et al., 2006) และสามารถป้องกันผิวหนังเสื่อมสภาพได้จากการกระตุ้นการต่อต้านอนุมูลอิสระและลดกระบวนการอักเสบ (Sergio et al., 2018) อย่างไรก็ตามขนาดที่แนะนำให้รับประทานต่อวันคือ 4-6 mg (ได้จากสารสกัดสาหร่าย 250 mg) โดยปัจจุบันในท้องตลาดมีจำหน่ายในรูปแบบเม็ดและแคปซูลที่มี astaxanthin กระจายหรือละลายอยู่ในน้ำมัน

แต่ด้วยข้อจำกัดด้านการดูดซึมเข้าสู่ทางเดินอาหาร พบว่า astaxanthin ชนิดผงและสารละลาย astaxanthin ในน้ำมัน (บรรจุในแคปซูลนิ่ม) ดูดซึมเข้าสู่ทางเดินอาหารได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับรูปแบบอิมัลชัน (Odeberg et al., 2003) และขนาดของหยดวิภูภาคภายในของอิมัลชันมีผลต่อการดูดซึม โดยพบว่าวิภูภาคภายในที่มีขนาดเล็กสามารถเพิ่มการดูดซึมของ astaxanthin ได้อย่างรวดเร็วและมากกว่าตำรับที่มีขนาดวิภูภาคภายในที่ใหญ่กว่า (Affandi et al., 2012) นอกจากนี้ ยังมีข้อจำกัดด้านความไม่คงตัว พบว่า astaxanthin เสื่อมสภาพได้อย่างรวดเร็ว เมื่อสัมผัสกับปัจจัยต่างๆ คือ อุณหภูมิสูง สภาวะที่มีออกซิเจน แสง และสภาวะกรดต่างรุนแรง ซึ่งส่งผลให้ astaxanthin มีสีเปลี่ยนแปลงไปและสูญเสียฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ด้วยข้อจำกัดดังกล่าวนำไปสู่การเลือกใช้ระบบนำส่งที่

สามารถช่วยเพิ่มการดูดซึมและป้องกันการเสื่อมสภาพได้ โดยการใช้ระบบนาโนอิมัลชันที่มีวุ้นภาคภายในขนาดเล็กจนถึงระดับนาโน ซึ่งสามารถช่วยเพิ่มการดูดซึมเข้าสู่ทางเดินอาหารได้ และจากข้อมูลการศึกษาเรื่องความคงตัวของสารสำคัญ พบว่า ตำรับนาโนอิมัลชันสามารถช่วยป้องกันการสลายตัวของสารสำคัญจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Liu et al., 2016) ตำรับนาโนอิมัลชันจึงมีความน่าสนใจที่ใช้เป็นระบบนำส่งสารสำคัญ astaxanthin องค์ประกอบของตำรับนาโนอิมัลชันจึงเป็นสิ่งที่ต้องพิจารณาต่อไป ที่จะส่งผลต่อความคงตัวทางกายภาพของตำรับและความคงตัวทางเคมีของสารสำคัญ เมื่อพิจารณาถึงวุ้นภาคน้ำมัน จากการศึกษาผลของน้ำมันแต่ละชนิดที่เข้ารับประทานต่อความคงตัวของ astaxanthin พบว่า astaxanthin มีคงตัวได้ดีในน้ำมันทุกชนิดที่ทดสอบเมื่อเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง และเมื่อทดสอบที่อุณหภูมิ 70°C และ 90°C นาน 8 ชั่วโมง พบว่าในน้ำมันรำข้าวมีปริมาณ astaxanthin เหลืออยู่ 84–90% ซึ่งความคงตัวที่ดีของน้ำมันสัมพันธ์กับปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว รวมถึงองค์ประกอบอื่นๆ ในน้ำมัน คือ tocopherol และ phenolic ที่ช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาการออกซิเดชันของน้ำมัน (Rao et al., 2007) และพบว่า oleic acid ปริมาณสูงสามารถเกิดไมเซลล์ในทางเดินอาหารได้ดี และส่งผลให้สารสำคัญสามารถดูดซึมเข้าสู่ทางเดินอาหารได้ดีตามไปด้วย จากการศึกษาอิทธิพลของน้ำมันต่อการเกิดไมเซลล์ของ lutein ในทางเดินอาหารจำลอง พบว่า ในน้ำมันรำข้าวมี oleic acid เป็นองค์ประกอบ $42.14 \pm 0.537\%$ และสามารถเกิดไมเซลล์ของ lutein ในทางเดินอาหารจำลองได้ 74.8% จึงส่งผลให้ lutein สามารถดูดซึมเข้าสู่ทางเดินอาหารได้ดี (Nidhi and Baskaran, 2011)

นอกจากนี้ในน้ำมันรำข้าวยังมีองค์ประกอบที่มีประโยชน์อื่นๆ เช่น gamma oryzanol, ceramide, melatonin และ beta-carotene ซึ่งเป็นที่ยอมรับของตลาดในการใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและน้ำมันรำข้าวยังถูกเลือกใช้เป็นของเหลวที่ละลายหรือกระจาย astaxanthin ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด (AlmeidaRigo et al., 2014) น้ำมันรำข้าวจึงมีคุณสมบัติที่ดีในการใช้เป็นวุ้นภาคน้ำมันในระบบอิมัลชัน

สำหรับการเลือกใช้สารทำอิมัลชัน จากการศึกษาความคงตัวของตำรับ astaxanthin นาโนอิมัลชันโดยใช้สารทำอิมัลชัน 2 ชนิดร่วมกัน คือ lecithin และ Tween 80 ที่ความเข้มข้น 4% ในอัตราส่วน 4:6 พบว่า ตำรับ astaxanthin นาโนอิมัลชันมีความคงตัวที่ดีทั้งทางเคมีและกายภาพใน 3 อุณหภูมิที่ศึกษา เมื่อทำศึกษานาน 90 วัน โดยที่อุณหภูมิ 5 °C และ 25 °C ปริมาณ astaxanthin เปลี่ยนแปลงลดลงไม่แตกต่างจากวันแรก แต่ที่อุณหภูมิ 40 °C พบว่า ปริมาณ astaxanthin มีการ

เปลี่ยนแปลงลดลง 28-29% (Affandi et al., 2011) และเมื่อพิจารณาผลของสารทำอิมัลชันแต่ละชนิด จากการศึกษาเปรียบเทียบผลของสารทำอิมัลชันระหว่าง modified lecithin (ML) และ sodium caseinate (SC) เมื่อใช้เดี่ยวๆ ที่ความเข้มข้น 2% ในการเตรียมตำรับ astaxanthin นาโนอิมัลชัน พบว่าขนาดอนุภาคที่เตรียมได้จาก SC มีขนาดใหญ่กว่า ML เล็กน้อย เนื่องจาก SC เป็นสารในกลุ่มโปรตีน มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า และเมื่อพิจารณาถึงความคงตัวของ astaxanthin ที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 30 วัน พบว่าปริมาณ astaxanthin ที่เตรียมด้วย SC เปลี่ยนแปลงลดลงจาก 400 ± 5.0 เป็น $283 \mu\text{g/ml}$ คิดเป็น 29.25% และ ML เปลี่ยนแปลงลดลงจาก 385.2 ± 3.3 เป็น $178 \mu\text{g/ml}$ คิดเป็น 53.82% ซึ่งตำรับที่เตรียมจากสารทำอิมัลชัน SC มีปริมาณ astaxanthin เปลี่ยนแปลงลดลงน้อยกว่า ML (Khalid et al., 2017) จะเห็นได้ว่าการใช้สารทำอิมัลชันที่มีมวลโมเลกุลขนาดใหญ่มีผลดีต่อความคงตัวของ astaxanthin และการเลือกใช้สารทำอิมัลชันในกลุ่มโปรตีน ร่วมกับ สารทำอิมัลชันชนิดอื่นๆ ทำให้พฤติกรรมการจัดเรียงตัวของสารทำอิมัลชันที่ผิวประจันเปลี่ยนแปลงไป การเลือกใช้สารทำอิมัลชันแบบผสมจึงมีแนวโน้มที่จะส่งผลดีต่อความคงตัวของ astaxanthin ตามไปด้วย โดยเลือกใช้สารในกลุ่ม nonionic surfactant ในงานวิจัยนี้เลือกใช้ polysorbate 80 ซึ่งเป็นสารทำอิมัลชันที่มีมวลโมเลกุลขนาดเล็ก ที่ได้จากการสังเคราะห์ และมีใช้กันอย่างแพร่หลายในแวดวงอาหาร มีข้อมูลด้านความปลอดภัยที่ดี ไม่มีประจุ และมีคุณสมบัติในการลดแรงตึงผิวช่วยทำให้เกิดอิมัลชันได้ดี

จากการทบทวนวรรณกรรมยังไม่มีข้อมูลเปรียบเทียบถึงผลของสารทำอิมัลชันต่อความคงตัวของ astaxanthin ในแง่การใช้สารทำอิมัลชันแบบเดี่ยวแต่ละชนิดเปรียบเทียบกับการใช้สารทำอิมัลชันแบบผสม ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาผลของสารทำอิมัลชันในการพัฒนาตำรับนาโนอิมัลชันเพื่อนำส่งสาร astaxanthin ในรูปแบบรับประทาน โดยเลือกใช้น้ำมันรำข้าวเป็นฐานน้ำมัน และศึกษาถึงผลของสารทำอิมัลชัน 2 ชนิด คือ sodium caseinate และ polysorbate 80 โดยเบื้องต้นจะทำการศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นสารทำอิมัลชันชนิดเดียวและแบบผสมต่อคุณสมบัติและความคงตัวของตำรับนาโนอิมัลชัน หลังจากได้ตำรับนาโนอิมัลชันที่มีความคงตัวทางกายภาพที่ดี จะทำการศึกษาผลของสารทำอิมัลชันชนิดเดียวและแบบผสมต่อ ความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

วัตถุประสงค์ทั่วไป

เพื่อศึกษาผลของสารทำอิมัลชันต่อคุณสมบัติและความคงตัวของระบบนำส่งนาโนอิมัลชันเพื่อนำส่งสาร astaxanthin ในรูปแบบรับประทาน

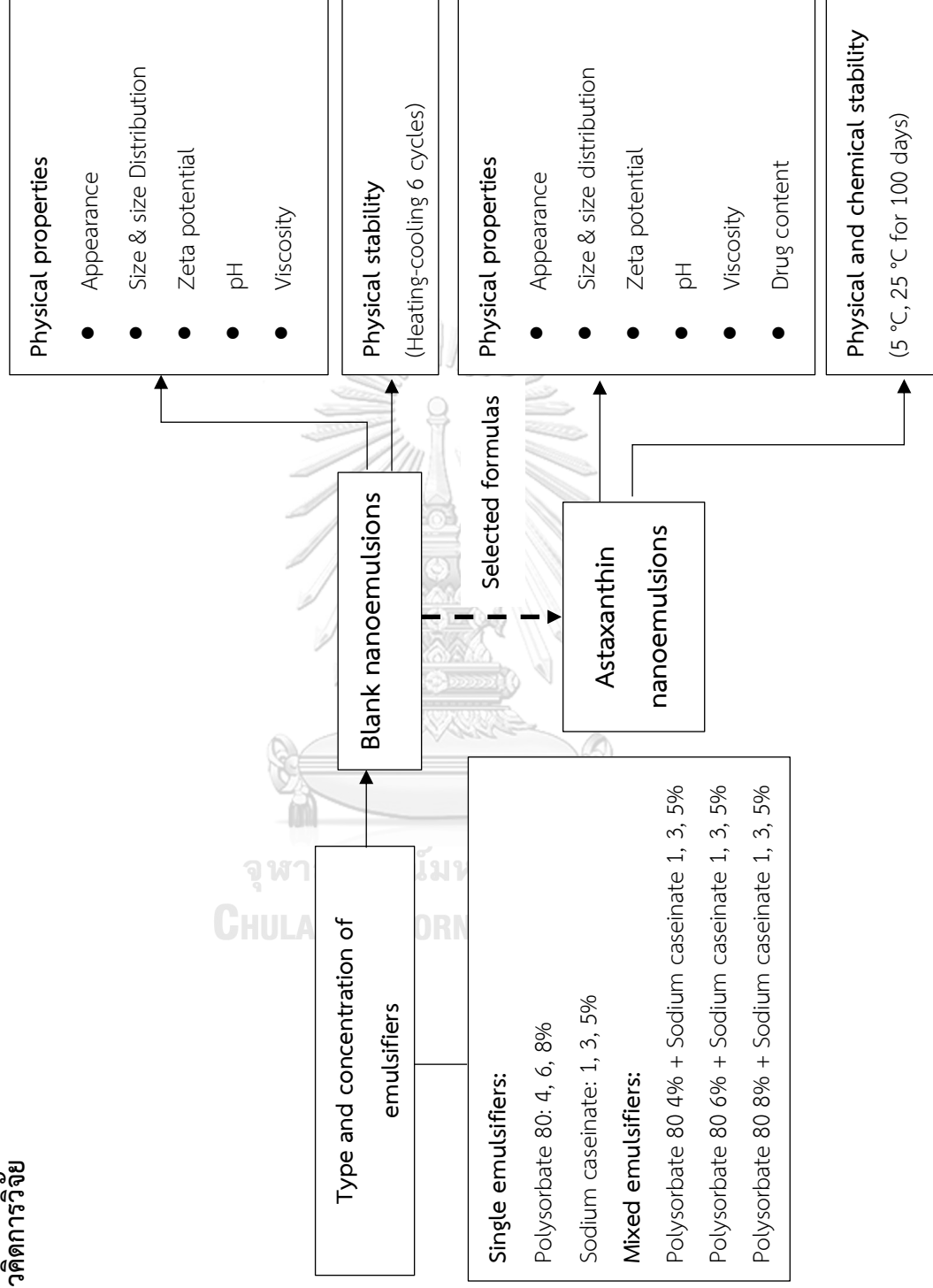
วัตถุประสงค์เฉพาะ

1. ศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันต่อคุณสมบัติและความคงตัวของร่างกายของนาโนอิมัลชัน
2. ศึกษาผลของสารทำอิมัลชันชนิดเดียวและแบบผสมต่อคุณสมบัติและความคงตัวของร่างกายและทางเคมีของนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงผลของชนิดและความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันต่อคุณสมบัติและความคงตัวของร่างกายของระบบนาโนอิมัลชัน และผลของการใช้สารทำอิมัลชันชนิดเดียวและแบบผสมต่อความคงตัวของร่างกายและทางเคมีของตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin เพื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่อไป และสามารถกำหนดอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมเพื่อให้สารสำคัญ astaxanthin มีความคงตัวทางเคมีที่ตลอดอายุการใช้งาน

กรอบแนวคิดการวิจัย



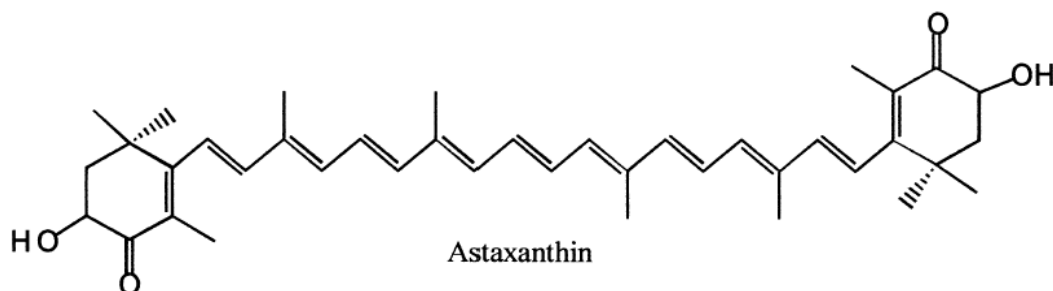
บทที่ 2

ปรีทัศน์วรรณกรรม

2.1 คุณสมบัติของ astaxanthin

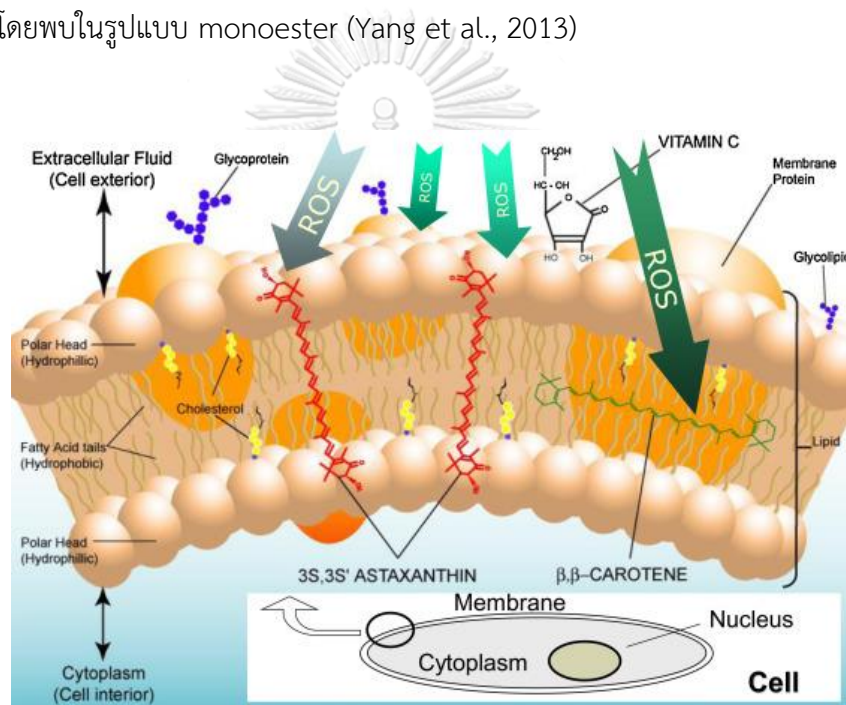
2.1.1 ข้อมูลทั่วไปของ astaxanthin

Astaxanthin (3,3'-dihydroxy- β,β' -carotene-4,4'-dione) มีลักษณะเป็นผงสีส้มจนถึงสีแดง สูตรทางเคมี คือ $C_{40}H_{52}O_4$ น้ำหนักโมลโมเลกุลเท่ากับ 596.84 g/mol (Zuluaga et al., 2018) มีค่าการละลายน้ำ 7.9×10^{-10} mg/L ที่ 25 °C สามารถละลายได้ดีในน้ำมัน มีค่า partition coefficient ($\log K_{ow}$) 13.27 มีลักษณะโครงสร้างดังภาพที่ 1 ซึ่งโครงสร้างเป็น oxygenated β -ionone 2 วง เชื่อมต่อกันด้วยสายพันธะคู่สลับกับพันธะเดี่ยว (conjugated double bonds) โดยภายในวง ionone ประกอบด้วยกลุ่มฟังก์ชัน hydroxyl (OH) และ keto (C=O) จึงจัดอยู่ในกลุ่ม xanthophyll carotenoid จากลักษณะโครงสร้างดังกล่าว ทำให้ astaxanthin มีขั้วเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับสารในกลุ่ม carotenoid ชนิดอื่นๆ และด้วยความยาวของสาย conjugated double bonds ที่เหมาะสมทำให้ astaxanthin สามารถเรียงตัวอยู่บน phospholipid bilayer ของ cell membrane ได้พอดี จึงสามารถเชื่อมต่อระหว่างด้านในกับด้านนอกเซลล์ได้ สามารถจับกับสารอนุมูลอิสระที่อยู่ภายในเซลล์และส่งออกสู่ภายนอกเซลล์ได้ โดยกลไกการออกฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เกิดจาก conjugated double bond ที่สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนเป็นอนุพันธ์ที่คงตัวมากขึ้นและยุติปฏิกิริยาลูกโซ่ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ astaxanthin จึงจัดเป็นสาร transmembrane antioxidant (Ambati et al., 2014) ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะโครงสร้างของ astaxanthin (Ciapara et al., 2006)

จากการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่า astaxanthin มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า α -tocopherol 100 เท่า และสูงกว่าสารในกลุ่ม carotenoids ชนิดอื่นๆ 10 เท่า เช่น zeaxanthin, lutein, canthaxanthin, และ β -carotene (Fakhri et al., 2018) ในธรรมชาติสามารถพบ astaxanthin ได้ 3 รูปแบบ คือ 1. รูปแบบ free form ซึ่งรูปแบบนี้จะเกิดออกซิเดชันได้ง่ายกว่ารูปแบบอื่นๆ 2. รูปแบบที่จับกับโปรตีน โดยพบตามโครงสร้างภายนอกของกระดูก เช่น กุ้ง และ 3. รูปแบบที่จับกับไขมัน เช่น mono-ester หรือ di-ester สำหรับสารสกัด astaxanthin ส่วนใหญ่ได้มาจากสาหร่ายเซลล์เดียว *Haematococcus pluvialis* โดยพบในรูปแบบ monoester (Yang et al., 2013)



ภาพที่ 2 แสดงการเชื่อมต่อของสาร astaxanthin ระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ (Eiji, 2013)

2.1.2 กระบวนการย่อย การดูดซึม และขนส่งสาร astaxanthin

Astaxanthin จัดเป็นสารในกลุ่ม xanthophyll carotenoids ที่ละลายได้ดีในไขมัน แต่ดูดซึมเข้าสู่ทางเดินอาหารต่ำเมื่อเทียบกับอาหารประเภทไขมันชนิดอื่นๆ กระบวนการดูดซึม astaxanthin จะเกิดขึ้นพร้อมกับการดูดซึมอาหารประเภทไขมันที่ลำไส้เล็ก โดยเมื่อหยดไขมันเดินทางมาถึงลำไส้เล็ก เกลื่อน้ำดีที่หลั่งมาจากเซลล์ตับจะทำหน้าที่ลดขนาดของไขมัน และเอนไซม์ lipase ที่หลั่งมาจากตับอ่อนจะทำหน้าที่ย่อยไตรกลีเซอไรด์ โดยการตัดพันธะเอสเทอร์ได้เป็น free fatty acid และ monoglyceride และเอนไซม์ esterase ตัดพันธะเอสเทอร์ของ astaxanthin ที่อยู่

ในรูปแบบ mono-ester และ di-ester ให้อยู่ในรูปแบบ free form สารทั้งหมดที่ได้จากกระบวนการย่อย จะละลายรวมกันอยู่ใน mixed lipid micelle และแพร่ผ่าน unstirred water layer เข้าสู่เซลล์ enterocytes โดยกระบวนการ passive diffusion จากนั้น astaxanthin ในรูปแบบ free form จะถูกปลดปล่อยออกมา พร้อมกับเอนไซม์ต่างๆที่แยกตัวออกมา และ astaxanthin จะเข้าไปรวมตัวกับ chylomicrons แล้วจึงกระจายไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ โดยระบบ systemic circulation ทาง portal system (Lim et al., 2018) จึงสามารถพบ astaxanthin ในรูปแบบ free form ได้ใน lipoprotein ทุกชนิดของมนุษย์ ทั้งใน very low-density lipoprotein (VLDL), low-density lipoprotein (LDL) และ high-density lipoprotein (HDL) โดยค่า bioavailability ของ astaxanthin น่าจะขึ้นอยู่กับกระบวนการ esterification ที่เกิดขึ้นในทางเดินอาหาร สำหรับการกระจายไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ ยังไม่มีการศึกษาที่แน่ชัดในมนุษย์ มีเพียงข้อมูลที่ได้การศึกษาในหนูทดลอง พบว่า astaxanthin มีการสะสมที่ตับในปริมาณสูง และพบการกระจายไปยังหัวใจและสมองร่วมด้วย โดยในเซลล์ตับของหนูทดลอง พบว่า astaxanthin ถูกเมทาบอลิซ์ได้เป็น 3-hydroxy-4-oxo- β -ionone และ 3-hydroxy-4-oxo-7,8-dihydro- β -ionone ซึ่งยังไม่ทราบแน่ชัดถึงเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการเมทาบอลิซ์ และสาเหตุของการเพิ่มขึ้นของ cytochrome P450 ในเซลล์ตับของหนูทดลองด้วย (Yang et al., 2013)

จากการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถการเกิดไมเซลล์ในระบบทางเดินอาหารจำลองของน้ำมัน 6 ชนิดต่อไปนี้ คือ น้ำมันมะกอก น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันรำข้าว และน้ำมันปาล์ม พบว่า ความสามารถในการเกิดไมเซลล์ของน้ำมันแต่ละชนิดขึ้นกับปริมาณ oleic acid ที่แตกต่างกันในน้ำมันแต่ละชนิด โดยในน้ำมันรำข้าวมีปริมาณ oleic acid สูง จึงสามารถเกิดไมเซลล์ได้ 74.8% จึงส่งผลให้สารสำคัญที่ละลายในน้ำมันรำข้าวมีการดูดซึมที่ดีตามไปด้วย (Odeberg et al., 2003) ดังนั้นการเลือกชนิดของน้ำมันจึงมีผลต่อการเกิดไมเซลล์ในทางเดินอาหารและการดูดซึมสารสำคัญเข้าสู่ทางเดินอาหารที่แตกต่างกันด้วย และจากการศึกษาผลของเภสัชตำรับต่อการดูดซึมของ astaxanthin ในทางเดินอาหารของมนุษย์ โดยการศึกษาในอาสาสมัครเพศชายจำนวน 32 คน แบ่งเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 8 คน ในแต่ละกลุ่มจะได้รับตำรับของ astaxanthin ที่แตกต่างกัน โดยจะมีปริมาณสารสกัดจากสาหร่ายเซลล์เดียว *H. pluvialis* ซึ่งมี astaxanthin ประมาณ 40 mg เท่ากัน โดยแบ่งเป็น กลุ่มควบคุม คือ กลุ่มที่ได้รับตำรับในรูปแบบสารสกัดจากสาหร่ายเซลล์เดียว

แบบผง และ กลุ่มทดลอง คือ กลุ่ม A คือ กลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากสาหร่ายเซลล์เดียวในน้ำมันปาล์ม 0.63% กับ polysorbate 80 0.05% , กลุ่ม B คือ กลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากสาหร่ายเซลล์เดียวใน glycerol mono- and dioleate 0.20% และ polysorbate 80 0.56% , และกลุ่ม C คือกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากสาหร่ายเซลล์เดียวใน glycerol mono- and dioleate 0.20%, polysorbate 80 และ sorbitan monooleate 0.56% โดยทุกตำรับบรรจุในเปลือกแคปซูลเจลาตินชนิดแข็งเหมือนกัน ทำการศึกษาโดยให้อาสาสมัครรับประทานสารสกัดจากสาหร่ายเซลล์เดียว *H. pluvialis* วันละ 1 ครั้ง นาน 14 วัน แล้วเก็บตัวอย่างเลือดมาวิเคราะห์ plasma profile ตามค่าต่างๆ ได้ผลแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณการดูดซึม astaxanthin เข้าสู่กระแสเลือดของแต่ละตำรับ (Odeberg et al., 2003)

Fomulation	Subjects (n)	$AUC_{(0-\infty)} \pm S.D.$ ($\mu\text{g} \cdot \text{h/l}$)	$C_{\text{max}} \pm S.D.$ ($\mu\text{g/l}$)	$t_{1/2} \pm S.D.$ (h)	t_{max} (h) (min-max)	t_{lag} (h) (min-max)
Reference	8	1347±501	55.2±15.0	16.7±7.2	8 (8-8)	3 (2-4)
A	8	2216±574*	90.1±29.3*	15.7±5.0	10 (8-12)	2 (0-4)
B	8	4960±1504*	191.5±59.3*	19.1±2.4	8 (8-12)	1 (0-2)*
C	8	2580±850*	125.7±38.2*	12.1±3.3	8 (8-12)	2 (0-2)*

C_{max} คือ ระดับยาในพลาสมาสูงสุด

T_{max} คือ ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มให้ยาจนถึงเวลาที่ระดับยาในพลาสมาสูงสุด

T_{lag} คือ ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มให้ยาจนถึงเวลาที่สามารวิเคราะห์ระดับยาในพลาสมาได้

$AUC_{(0-\infty)}$ คือ ค่าพื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นของยากับเวลาที่คำนวณจนถึงเวลาที่ infinity

$t_{1/2}$ คือ ค่าครึ่งชีวิตของยา

ผลการศึกษา พบว่า ในกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่ม มีค่าการดูดซึม astaxanthin เข้าสู่กระแสเลือดได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม โดยกลุ่ม B มีค่าการดูดซึม astaxanthin สูงที่สุด โดยดูจากค่า C_{max} และ $AUC_{(0-\infty)}$ ที่สูงที่สุดและสูงกว่ากลุ่มควบคุม 3.7 เท่า รองลงมาคือ กลุ่ม C และ A ตามลำดับ โดยผู้วิจัยได้ให้เหตุผลว่า กลุ่มที่ได้รับตำรับ B สามารถดูดซึมปริมาณ astaxanthin เข้าสู่กระแสเลือดได้ดีที่สุดเนื่องจากมีปริมาณสารทำอิมัลชันกลุ่มที่ชอบน้ำสูงที่สุด เมื่อเทียบกับกลุ่ม A และ C โดยสารทำอิมัลชันกลุ่มที่ชอบน้ำช่วยทำให้เกิดหยดอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าในทางเดินอาหารจึงมีการดูดซึมที่มากกว่าตามไปด้วย (Odeberg et al., 2003) และการเลือกใช้สารทำอิมัลชันกลุ่มที่ชอบน้ำมีผลดีต่อการดูดซึมมากกว่าสารทำอิมัลชันกลุ่มที่ชอบน้ำมันและเมื่อพิจารณาถึงผลของรูปแบบตำรับและขนาด

อนุภาคต่อการดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด จากการศึกษาในหนูทดลอง (n=9) นาน 3 สัปดาห์ เปรียบเทียบกัน 3 กลุ่ม โดยมีกลุ่มควบคุม คือ กลุ่มที่ได้รับตำรับสารละลาย astaxanthin ใน palm olein และกลุ่มทดลอง คือ กลุ่มที่ได้รับตำรับอิมัลชันที่ใช้สารทำอิมัลชัน Tween 80 และ lecithin ที่ความเข้มข้น 4% เท่ากันซึ่งเตรียมด้วยวิธีแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยกลุ่ม A คือ กลุ่มที่ได้รับ macrosized emulsion ที่มีขนาดอนุภาค $8.9 \pm 0.014 \mu\text{m}$ และ กลุ่ม B คือ กลุ่มที่ได้รับ nanosized emulsion ที่มีขนาดอนุภาค $0.128 \pm 0.015 \mu\text{m}$

ตารางที่ 2 แสดงองค์ประกอบและวิธีการเตรียมตำรับ astaxanthin ของแต่ละสูตรตำรับ (Affandi et al., 2012)

Formulation	Astaxanthin Extract	Palm Olein	Water	Surfactant (Tween 80 + Lecithin)	High Speed Homogeniser (HSH)	High Pressure Homogeniser (HPH)	Droplet size (μm)
Reference (Astaxanthin Oil)	2%	98%	—	—	—	—	—
A (macrosized emulsion)	2%	14%	80%	4%	9000 rpm 5 min	—	8.9 ± 0.014
B (nanosized emulsion)	2%	14%	80%	4%	9000 rpm 5 min	800 bar 5 cycles	0.128 ± 0.015

จากนั้นติดตามดูปริมาณ astaxanthin ในพลาสมา พบว่ากลุ่ม B (nanosized emulsion) มีค่า C_{max} , $AUC_{0-\infty}$ และ t_{max} แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม A (macrosized emulsion) และกลุ่มควบคุม (สารละลายในน้ำมัน) โดยพบว่า ขนาดอนุภาคที่เล็กลงช่วยเพิ่มการดูดซึม astaxanthin เข้าสู่กระแสเลือด และมีผลทำให้ค่า t_{max} ลดลง โดยค่า t_{max} คือ 2.8 ± 0.73 ชั่วโมง, 4.3 ± 0.5 ชั่วโมง และ 5.5 ± 0.66 ชั่วโมง ของตำรับ nanosized emulsion, macrosized emulsion และสารละลายในน้ำมัน ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่าการลดขนาดอนุภาคให้มีขนาดเล็กจนถึงระดับ nanosized สามารถช่วยเพิ่มการดูดซึมและช่วยลดระยะเวลาในการดูดซึมยาเข้าสู่กระแสเลือดจนถึงระดับยาสูงสุดได้ โดยขนาดอนุภาคไม่มีผลต่อค่าคงที่การสลายตัวและค่าครึ่งชีวิตของตำรับ (Affandi et al., 2012)

ดังนั้น ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซึมของ astaxanthin ในทางเดินอาหาร ได้แก่ ประเภทของตำรับ ชนิดและความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันหรือสารลดแรงตึงผิว และการลดขนาดอนุภาคของตำรับให้อยู่ในช่วง nanosized จะสามารถช่วยเพิ่มการดูดซึม astaxanthin ได้อีกด้วย

ตารางที่ 3 แสดงค่า C_{max} , $AUC_{0-\infty}$ และ t_{max} ของแต่ละสูตรตำรับ (Affandi et al., 2012)

Subject	Oil Solution			Macrosized emulsion			Nanosized emulsion		
	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	$AUC_{0-\infty}$ (h.ng.mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	$AUC_{0-\infty}$ (h.ng.mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (h)	$AUC_{0-\infty}$ (h.ng.mL)
1	325.08	5.0	11302.83	499.60	4.0	17719.50	697.08	3.0	20730.78
2	330.16	4.0	13563.82	429.55	4.0	16587.34	653.33	2.0	25505.29
3	315.76	5.0	6804.70	429.55	4.0	12349.32	640.84	2.0	24732.22
4	311.61	5.0	11037.66	403.74	4.0	14214.22	732.93	3.0	13251.19
5	309.40	6.0	14204.42	437.39	5.0	15137.53	682.69	4.0	15671.24
6	294.92	6.0	10702.20	497.28	4.0	16201.53	746.32	3.0	16383.32
7	330.01	6.0	10910.69	459.73	5.0	16977.00	694.47	3.0	26937.56
8	301.36	6.0	14656.05	531.82	4.0	16587.53	751.51	2.0	24931.84
9	301.91	6.0	10175.88	497.22	5.0	16961.73	689.22	3.0	17482.05
Mean	313.36	5.4	11484.25	465.10	4.3	15859.52	698.71	2.8	20625.05
SD	12.924	0.667	2412.654	43.008	0.5	1682.619	38.733	0.726	5072.939
CV%	4.1	12.4	21.0	9.2	11.6	10.6	5.5	25.9	24.60

CV: Coefficient of variation, SD: Standard Deviation

2.1.3 ฤทธิ์ทางชีววิทยาของ astaxanthin

การทำงานของ astaxanthin ในทางชีววิทยาอาศัยการทำงาน 3 กลไกหลัก (Fakhri et al., 2018, Yang et al., 2013) คือ

1. ฤทธิ์ต่อต้านสารอนุมูลอิสระ

ภาวะ oxidative stress ถือเป็นหนึ่งในพยาธิวิทยาของโรคหลายชนิด จากการไปรบกวนสภาวะสมดุลของปฏิกิริยา prooxidant/antioxidant จึงทำให้เกิดการตกตะกอนของ reactive oxygen species (ROS) และ free radicals ในเซลล์ โดย astaxanthin จะทำหน้าที่ป้องกันความเสียหายที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยกลไกต่างๆ เช่น neutralizing กับ singlet oxygen, จับกับ radicals เพื่อป้องกันปฏิกิริยาลูกโซ่, ป้องกันโครงสร้างของ cell membrane โดยการยับยั้ง lipid peroxidation, เพิ่มการทำงานของภูมิคุ้มกัน และการควบคุมการแสดงออกของยีนส์

2. ฤทธิ์ต่อต้านกระบวนการอักเสบ

กระบวนการอักเสบเป็นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ถือเป็นกลไกในการป้องกันความเสียหายที่จะเกิดกับ host cell หรือเป็นกลไกการตอบสนองต่อกระบวนการบาดเจ็บของร่างกาย เพื่อเริ่มต้นกระบวนการซ่อมแซมของเซลล์ในร่างกาย อย่างไรก็ตามหากกระบวนการอักเสบมีมากเกินไปหรือไม่สามารถควบคุมได้ ก็จะนำไปสู่การบาดเจ็บและนำมาซึ่งความเสียหายต่อ host cell และเนื้อเยื่อต่างๆ กระบวนการอักเสบจึงมีบทบาทสำคัญในสภาวะเสื่อมของระบบประสาททั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง astaxanthin ซึ่งมีคุณสมบัติในการเป็น antioxidant ที่ดี จึง

เป็นตัวช่วยในการหยุดการเริ่มต้นของกระบวนการอักเสบที่จะเกิดขึ้น ซึ่งช่วยป้องกันการดำเนินไปของโรคที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ เช่น ระบบความผิดปกติในสมอง โดยการยับยั้งการส่งสัญญาณของ NF-KB ซึ่งเกี่ยวข้องการสร้างสาร inflammatory mediator, ยับยั้งกลไกการอักเสบ โดยการยับยั้ง cyclooxygenase-1 enzyme (COX-1) และ nitric oxide (NO) จึงช่วยให้โรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบดีขึ้น เช่น arteriosclerosis, inflammatory bowel disease, sepsis, rheumatoid arthritis, gastric inflammation, brain inflammatory diseases และสามารถช่วยลดปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* ในหนูได้

3. ฤทธิ์ในการยับยั้งกระบวนการตายของเซลล์

การตายของเซลล์ที่มากเกินไปสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลายชนิด เช่น โรคเซลล์ประสาทเสื่อม, ภาวะหลอดเลือดสมองตีบ, โรคหัวใจ, ภาวะติดเชื้, และการทำงานที่ผิดปกติของหลายอวัยวะต่างๆ โดย astaxanthin จะทำหน้าที่เป็นสาร anti-apoptotic หรือ pro-apoptotic โดยสามารถลดการตายของเซลล์จอประสาทตาในผู้ป่วยเบาหวาน จึงช่วยชะลอการดำเนินไปของโรคได้

สำหรับในทางเครื่องสำอาง ผิวหนังถือเป็นด่านแรกที่สัมผัสกับสิ่งแวดล้อมภายนอก ไม่ว่าจะเป็น oxidative stress และรังสีอัลตราไวโอเล็ต นำไปสู่ภาวะการเสื่อมสภาพของผิวหนังที่เรียกว่า photo-aging คือ สภาวะที่ผิวหนังเกิด DNA damage, ลดการสร้างสารต่อต้านอนุมูลอิสระ, เกิดกระบวนการอักเสบ, และเพิ่มการสร้าง matrix metalloproteinases (MMPs) จากศึกษาโดยพิจารณาถึงค่าพารามิเตอร์ต่างๆ เช่น ริ้วรอยบนผิวหนัง, ขนาดของริ้วรอย, ความยืดหยุ่นของผิว, ลักษณะของผิวหนัง, ปริมาณความชุ่มชื้น, การลดลงของ corneocyte, และ ปริมาณน้ำมันบนผิว พบว่า astaxanthin มีคุณสมบัติที่ดีในการช่วยชะลอการเกิด photo-aging ได้ (Donoso et al., 2021) ขนาดที่แนะนำให้รับประทานต่อวัน คือ 4-6 mg (ได้จากสารสกัดสาหร่าย 250 mg) โดยปัจจุบันในท้องตลาด astaxanthin มีจำหน่ายในรูปแบบเม็ดและแคปซูลที่มี astaxanthin กระจายหรือละลายอยู่ในน้ำมัน (Higuera-Ciapara et al., 2006)

2.1.4 ความไม่คงตัวทางเคมีของ astaxanthin

ด้วยลักษณะโครงสร้างทางเคมีของ astaxanthin ที่ประกอบไปด้วย β -ionone 2 วง เชื่อมต่อกันด้วยสาย conjugated polyene ส่งผลให้ astaxanthin เกิดการสลายตัวได้จากปฏิกิริยา

ออกซิเดชัน จากการสูญเสียอิเล็กตรอน หรือสูญเสียไฮโดรเจนอะตอม จนทำให้สายโซ่ polyene ขาดลง astaxanthin จึงมีสีเปลี่ยนแปลงไปและสูญเสียฤทธิ์ทางชีววิทยาที่ดี ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเสื่อมสภาพของ astaxanthin (Boon et al., 2010) ได้แก่

1. การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ส่งผลให้สายโซ่ polyene ขาดลง จนเกิดเป็นสายสั้นของ carbonyl compounds, carbon dioxide และ carboxylic acids
2. พลังงานความร้อน จนทำให้ polyene chain ขาดลง
3. พลังงานแสง แสงเป็นแหล่งพลังงานที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา Photo-oxidation เกิดเป็นอนุพันธ์ carotenoid radical cations และเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไปจนทำให้สายโซ่ polyene ขาดลง
4. สภาวะ acid-base hydrolysis โดยการรับเอาคู่อิออนเกิดเป็น carotenoid carbocation

ดังนั้น จึงต้องพิจารณาคงคุมปัจจัยดังกล่าว ตั้งแต่ องค์ประกอบตำรับ วิธีการเตรียม ภาชนะบรรจุ และการเก็บรักษา สำหรับแนวทางในการเพิ่มความคงตัวของ astaxanthin คือ การป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการเติมสารช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระเพื่อชะลอการปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งนำไปสู่การสลายตัวของสารสำคัญหรือองค์ประกอบอื่นๆ ในตำรับ โดยประสิทธิภาพของสารต่อต้านอนุมูลอิสระ ขึ้นกับคุณสมบัติและลักษณะปฏิกิริยาออกซิเดชันที่จะเกิดขึ้นในตำรับ สารต่อต้านอนุมูลอิสระที่ใช้ในการป้องกันการเสื่อมสภาพของตำรับ แบ่งได้ 3 ประเภท คือ 1. True antioxidant สารที่สามารถยุติปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระได้โดยตรง 2. Reducing agent สารที่มี redox potential น้อยกว่าสารสำคัญในตำรับ จึงสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระได้ก่อนสารสำคัญ 3. Antioxidants synergist สารที่ช่วยเสริมฤทธิ์สารต่อต้านอนุมูลอิสระตัวอื่นๆ (EMEA, 2003) จากการศึกษาเปรียบเทียบผลของสารต่อต้านอนุมูลอิสระ 2 ชนิด คือ ascorbic acid และ α -tocopherol ในตำรับ nanodispersion โดยมี astaxanthin 0.08% ใน 2.5% Stabilizer (29% polysorbate20, 65% sodium caseinate และ 6% gum arabic) จากนั้นคำนวณหาปริมาณ astaxanthin และปริมาณสารต่อต้านอนุมูลอิสระที่เหมาะสม โดยใช้ respond surface methodology (RSM) จากการวิเคราะห์ พบว่า ปริมาณ ascorbic acid สูงสุดที่ทำให้ระบบ nanodispersion ยังมีความคงตัวทางเคมีและกายภาพที่ดี คือ 40 mg/l หากสูงกว่านี้ระบบ nanodispersion จะสูญเสียความคงตัว

ทางกาย และปริมาณ α -tocopherol 60 mg/l เป็นความเข้มข้นที่ทำให้ astaxanthin มีความคงตัวทางเคมีดีที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง ascorbic acid และ α -tocopherol ที่ความเข้มข้นสูงสุด พบว่า ตำรับที่เติมสาร α -tocopherol มี astaxanthin มีความคงตัวที่ดีกว่า ascorbic acid (Anarjan et al., 2013) เนื่องจาก α -tocopherol จัดเป็นสาร True antioxidant ที่ละลายได้ในน้ำมัน จึงสามารถเข้าจับกับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในวัฏภาคน้ำมัน และช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation (Boon et al., 2010) ผู้วิจัยจึงเลือกใช้ที่ α -tocopherol ความเข้มข้น 60 mg/l ในการช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของระบบนาโนอิมัลชัน

และจากการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของตำรับ astaxanthin นาโนอิมัลชัน โดยใช้สารทำอิมัลชัน 1% Sodium caseinate ใน 10% น้ำมันข้าวโพด จากนั้นศึกษาในสภาวะเร่งที่แตกต่างกัน คือ อุณหภูมิ (5, 20, 37, 55 และ 70 °C), ค่าความเป็นกรด-ด่าง (2, 3, 4, 5, 6, 7, และ 8) ความเข้มข้นของเกลือ (0, 25, 50, 100, 200 และ 250 mM NaCl) และสภาพแวดล้อมสว่าง/มืด โดยทำการศึกษานาน 15 วัน จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณ astaxanthin โดยใช้ UV-visible spectrophotometer เปรียบเทียบกับการเปลี่ยนแปลงสีของ astaxanthin โดยใช้ Colorimeter พบว่า ปริมาณ astaxanthin ที่เสื่อมสภาพสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงลดลงของสีแดง (a^* value) สำหรับปัจจัยด้านอุณหภูมิ พบว่า ที่อุณหภูมิ 5 และ 20 °C ปริมาณ astaxanthin มีการเปลี่ยนแปลงลดลงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับตอนเริ่มต้น แต่ที่อุณหภูมิสูง (37, 55 และ 70 °C) astaxanthin เสื่อมสลายไปอย่างรวดเร็ว สำหรับปัจจัยด้านความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของเกลือ และสภาพแวดล้อมสว่าง/มืด ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของปริมาณ astaxanthin ยกเว้นตำรับที่สูญเสียความคงตัวทางกายภาพ (Liu et al., 2016) ดังนั้นในกระบวนการผลิตจึงต้องควบคุมการสัมผัสกับออกซิเจน และควบคุมอุณหภูมิในการเตรียม บรรจุในภาชนะที่ปิดสนิทและป้องกันแสง

2.2 Astaxanthin ในระบบนำส่งนาโนอิมัลชัน

2.2.1 ระบบนำส่งนาโนอิมัลชัน

ระบบนำส่งนาโนอิมัลชัน คือ ระบบอิมัลชันที่มีอนุภาคขนาดเล็ก (ขนาดอนุภาคตั้งแต่ 50 – 200 nm) กระจายอยู่ในตัวกลาง 2 ชนิดที่ไม่เข้ากัน มีความคงตัวทาง kinetic แต่ไม่คงตัวทาง thermodynamic โดยอาศัยสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมทั้งชนิดและปริมาณ ระบบนาโนอิมัลชันมี

ด้วยกัน 2 รูปแบบ คือ น้ำมันในน้ำ (O/W) และ น้ำในน้ำมัน (W/O) (Gurpreet and Singh, 2018) ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของระบบนาโนอิมัลชัน ประกอบไปด้วย ขั้นตอนการเตรียมตำรับนาโนอิมัลชัน ตั้งแต่ขั้นตอนในการเตรียมอิมัลชันหยาบจนถึงขั้นตอนการลดขนาดอนุภาคให้ได้ระดับนาโนเมตร โดยเทคนิคในการเตรียมนาโนอิมัลชัน มีด้วยกัน 2 แบบ คือ

1. Persuasion method หรือ phase inversion technique เป็นกระบวนการเตรียมนาโนอิมัลชันโดยไม่ใช้แรงจากภายนอก แต่การกระจายเป็นอนุภาคขนาดเล็กเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนเฟส หรือการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิหรือองค์ประกอบอื่นในตำรับ โดยมีการควบคุมตัวแปรอื่นๆ ให้คงที่ ข้อดีของกระบวนการนี้ คือ จะได้ตำรับที่มีอนุภาคภายในขนาดเล็ก เหมาะกับสารที่ละลายตัวได้ง่ายเมื่อสัมผัสความร้อน

2. Brute force method เป็นกระบวนการเตรียมโดยใช้แรงจากภายนอก เพื่อลดขนาดอนุภาคให้อยู่ในช่วงขนาดนาโน เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมนาโนอิมัลชัน ได้แก่ high pressure homogenizer, microfluidizer, high speed mixer, small pore membrane และ high frequency ultrasonic device โดยวิธีการนี้มีข้อดีในการเตรียมระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากกระบวนการมีความยืดหยุ่นมากกว่า สามารถควบคุมขนาดอนุภาคและการกระจายตัวของขนาดอนุภาคได้ดี มีสารเคมีให้เลือกใช้หลากหลาย และใช้สารทำอิมัลชันในปริมาณน้อยจึงช่วยลดผลข้างเคียงอื่นๆที่จะตามมา (Ariyaprakai, 2017) จากการศึกษาสภาวะการเตรียมด้วยเทคนิค microfluidization ใน 10% น้ำมันรำข้าว โดยใช้สารทำอิมัลชันผสม 2 ชนิด คือ polysorbate 80 และ sorbitan oleate จากนั้นพิจารณาหาค่าพารามิเตอร์ทางกระบวนการเตรียมที่เหมาะสม พบว่าเมื่อความดันเพิ่มขึ้นส่งผลให้ขนาดอนุภาคภายในลดลง โดยที่ความดัน 1500 bar อนุภาคภายในที่เตรียมได้มีขนาด 110-140 nm และจำนวนรอบที่ผ่านเครื่อง microfluidizer ที่มากขึ้นก็ส่งผลให้อนุภาคภายในมีขนาดเล็กลงตามไปด้วย โดยที่ 1500 bar จำนวน 5 รอบ ตำรับนาโนอิมัลชันมีขนาดอนุภาคภายในเล็กที่สุด และจากการศึกษาความคงตัวนาน 30 วัน พบว่า ขนาดของอนุภาคก่อนและหลังความคงตัวไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Santipongsak and Charnvanich, 2019) และจากการศึกษาความคงตัวทางด้านเคมีและกายภาพของ astaxanthin โดยใช้ 10% น้ำมันข้าวโพด และ สารทำอิมัลชัน คือ 1% sodium caseinate (SC) เตรียมโดยใช้เทคนิค microfluidization ที่ความดัน 12,000 psi จำนวน 5 รอบ จากการประเมินขนาดอนุภาคที่มีและไม่มี astaxanthin พบว่า ไม่มี ความแตกต่างกัน และ เมื่อเก็บไว้ที่ 5, 20, 37, 55 และ 70 °C นาน 15 วัน พบว่า การเก็บรักษาที่

อุณหภูมิสูงส่งผลให้ปริมาณ astaxanthin ลดลงรวดเร็วกว่าการเก็บรักษาอุณหภูมิต่ำ โดย SC ใดๆ สามารถทำให้ตำรับมีความคงตัวได้โดยการจับของ casein ล้อมรอบหอยต้วภูมิภาคน้ำมันในตำรับ (Liu et al., 2016) จะเห็นได้ว่ากระบวนการเตรียมด้วยเทคนิค microfluidization ที่ควบคุมความดันและจำนวนรอบที่เหมาะสม จะส่งผลให้สามารถเตรียมตำรับนาโนอิมัลชันที่มีอนุภาคขนาดเล็กและมีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคที่สม่ำเสมอ จึงส่งผลให้มีความคงตัวทางกายภาพที่ดีตามไปด้วย

ปัจจัยที่ต้องพิจารณาต่อไป คือ องค์ประกอบของตำรับ ซึ่งประกอบด้วย ภูมิภาคน้ำ ภูมิภาคน้ำมัน และสารทำอิมัลชัน โดยประสิทธิภาพในการเตรียมนาโนอิมัลชันให้มีอนุภาคขนาดเล็กนั้นขึ้นกับคุณสมบัติของสารทำอิมัลชัน ชนิดของน้ำมัน สัดส่วนระหว่างสารทำอิมัลชันต่อภูมิภาคน้ำมัน และปริมาณของตัวทำละลายอื่นในตำรับด้วย (Ariyaprakai, 2017)

2.2.2 คุณสมบัติของภูมิภาคน้ำมัน

น้ำมันที่ใช้รับประทานโดยทั่วไป มักประกอบไปด้วยกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (saturated fatty acid :SFA) และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid :UFA) สำหรับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว สามารถแบ่งย่อยได้เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acid :PUFA) และ กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (monounsaturated fatty acid :MUFA) และยังมีสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆผสมอยู่ด้วย ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้ส่งผลต่อความคงตัวที่แตกต่างกันของน้ำมันแต่ละชนิด จากการศึกษาผลของชนิดน้ำมันที่ใช้รับประทานต่อความคงตัวทางเคมีของ astaxanthin 0.1% ในน้ำมัน ดังต่อไปนี้ น้ำมันถั่วลิสง, น้ำมันงา, น้ำมันปาล์ม, น้ำมันทานตะวัน, น้ำมันมัสตาร์ด, น้ำมันรำข้าว, น้ำมันมะพร้าว, และน้ำมันมะกอก โดยทำการศึกษาที่อุณหภูมิห้อง, 70 °C และ 90 °C นาน 8 ชั่วโมง จากนั้นทำการเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 เดือน เพื่อทำการวิเคราะห์หา carotenoids โดยใช้วิธี TLC (thin layer chromatography), HPLC (high-performance liquid chromatography) และคำนวณปริมาณ peroxide value พบว่า astaxanthin คงค้างคงตัวได้ดีในน้ำมันทุกชนิดที่อุณหภูมิห้อง แต่ที่อุณหภูมิ 70 °C และ 90 °C astaxanthin มีความคงตัวแตกต่างกัน โดยในน้ำมันงา น้ำมันปาล์ม และน้ำมันรำข้าวมีปริมาณ astaxanthin คงเหลืออยู่ที่ 84–90% (Rao et al., 2007) เมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันทั้ง 3 ชนิด พบว่า ในน้ำมันรำข้าวมีกรดไขมันชนิดอิ่มตัว 17.8%, กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว 42.5%, และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน 40.2% (GopalaKrishna et al., 2006) ในน้ำมันปาล์มมีกรดไขมันชนิดอิ่มตัว 46.6%, กรด

ไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว 43.6%, และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน 9.8% (Montoya et al., 2014) และในน้ำมันงามีกรดไขมันชนิดอิ่มตัว 16.3%, กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว 41.9%, และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน 42.3% (Gharby et al., 2017) ซึ่งถือว่ามีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวและกรดไขมันอิ่มตัวสูงกว่าน้ำมันชนิดอื่นๆที่ทดสอบ จึงทำให้ที่อุณหภูมิสูง น้ำมันเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation น้อยกว่าน้ำมันชนิดอื่นๆ จึงไม่เกิดอนุมูลอิสระที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Martínez-Delgado et al., 2017) และจากการศึกษาได้พิจารณาถึงผลขององค์ประกอบสารต่อต้านอนุมูลอิสระอื่นๆในน้ำมัน ซึ่งแสดงปริมาณ tocopherol และ phenolic ในน้ำมันแต่ละชนิด พบว่า น้ำมันรำข้าวมีปริมาณ phenolic ร่วมกับ γ -tocopherol ในปริมาณสูง จึงช่วยยับยั้งปฏิกิริยา lipid peroxidation ได้ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณ tocopherol และ phenolic ในน้ำมันชนิดต่างๆ (Rao et al., 2007)

Edible oil	α -tocopherol $\mu\text{g g}^{-1}$	γ -tocopherol $\mu\text{g g}^{-1}$	δ -tocopherol $\mu\text{g g}^{-1}$	Phenolics mg g^{-1}
Mustard oil	1.48 \pm 0.01	8.45 \pm 0.05	13.64 \pm 0.05	4.31 \pm 0.02
Groundnut oil	18.02 \pm 0.18	21.00 \pm 0.11	1.68 \pm 0.01	1.90 \pm 0.13
Rice bran oil	1.74 \pm 0.03	12.35 \pm 0.03	0.73 \pm 0.01	3.97 \pm 0.07
Gingelly oil	4.67 \pm 0.04	28.77 \pm 0.02	0.75 \pm 0.14	3.87 \pm 0.16
Sunflower oil	13.52 \pm 0.04	3.29 \pm 0.02	-	1.88 \pm 0.10
Palm oil	10.12 \pm 0.34	15.26 \pm 0.23	4.16 \pm 0.024	5.32 \pm 0.03
Coconut oil	-	-	-	1.49 \pm 0.09
Olive oil	0.92 \pm 0.02	-	-	1.74 \pm 0.11

Data represents an average of three replicates: mean \pm SD.

นอกจากนี้ ยังมีสาร γ -oryzanol ซึ่งมีฤทธิ์เป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระที่ดีและเป็น phytochemical ที่พบในน้ำมันรำข้าวเท่านั้น (Rao et al., 2007) โดยพบว่าในน้ำมันรำข้าว ประกอบด้วย สาร phytosterols (1.5–2%), oryzanols (1.2–1.8%), tocopherols และ tocotrienols (0.15–0.2%) ซึ่งมีคุณสมบัติที่ดีในการช่วยลดคอเลสเตอรอลในเลือด ช่วยป้องกันและรักษาโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด รวมถึงโรคอื่นๆที่สัมพันธ์กับสภาวะดังกล่าว และอาการผิดปกติของวัยหมดประจำเดือนได้ (Liang et al., 2014) ด้วยฤทธิ์ทางชีววิทยาที่ดี ปัจจุบันจึงมีการบรรจุ น้ำมันรำข้าวลงในแคปซูลนิ่มเพื่อจำหน่ายเป็นอาหารเสริมอย่างแพร่หลายและน้ำมันรำข้าวยังถูกเลือกเป็นของเหลวที่ละลายหรือกระจาย astaxanthin เพื่อจำหน่ายในรูปแบบแคปซูลนิ่ม นอกเหนือจากอาหารเสริม astaxanthin รูปแบบเม็ดและแคปซูลแข็ง (AlmeidaRigo et al., 2014) จะเห็นได้ว่า astaxanthin ในน้ำมันรำข้าวเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปของตลาดผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร น้ำมันรำข้าวจึง

มีความน่าสนใจที่จะนำมาใช้เป็นวัสดุภาคน้ำมันในการเตรียมตำรับนาโนอิมัลชันเพื่อศึกษาความคงตัวทางเคมีของ astaxanthin

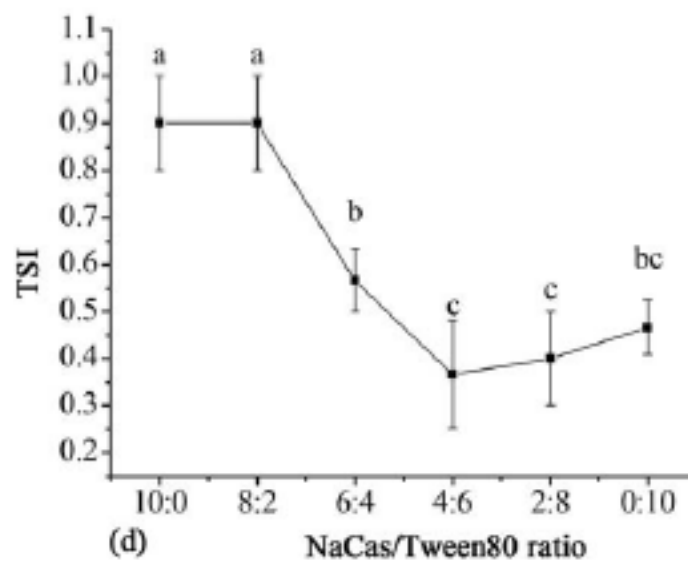
2.2.3 คุณสมบัติของสารทำอิมัลชัน

สารทำอิมัลชัน เป็นสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวประสานให้อนุภาคของของเหลวสองชนิดที่ไม่ละลายซึ่งกันและกันรวมกันได้โดยไม่เกิดการแยกชั้น ซึ่งภายในโมเลกุลประกอบด้วยส่วนที่ไม่มีขั้วหรือส่วนที่ชอบน้ำมัน (lipophilic part) และส่วนที่มีขั้วหรือส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic part) โดยสารทำอิมัลชันจะจัดเรียงตัวอยู่ที่ผิวประจัน โดยหันส่วนที่มีขั้วเข้าหาน้ำและส่วนที่ไม่มีขั้วเข้าหาน้ำมัน เพื่อให้ตำรับนาโนอิมัลชันมีความคงตัวทางกายภาพที่ดี ไม่เกิด flocculation, coalescence และ Ostwald ripening สารทำอิมัลชันที่เลือกใช้ควรคุณสมบัติ ดังนี้ คือ สารทำอิมัลชันต้องสามารถละลายได้อย่างดีในตัวกลางโดยส่วน hydrophobic ควรจับได้อย่างแข็งแรงที่ผิวประจันระหว่างน้ำมันและน้ำ หรือ ละลายได้ดีในวัฏภาคน้ำมันและปล่อยให้ส่วน hydrophilic อยู่ในตัวกลางที่เป็นของเหลวซึ่งต้องเข้ากันได้กับโมเลกุลของน้ำได้ เนื่องจากการจับของสารทำอิมัลชันเป็นแบบ reversible สารทำอิมัลชันจึงต้องสามารถจับได้อย่างแข็งแรง ไม่เช่นนั้นระบบจะเสียความคงตัวทางกายภาพ และสารทำอิมัลชันต้องสามารถสร้างชั้นฟิล์มที่หนาพอ สามารถล้อมรอบอนุภาคภายในได้อย่างสมบูรณ์ ป้องกันการเกิด flocculation ได้ จึงควรพิจารณาถึงความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันที่เหมาะสม โดยหากระบบมีแรงผลัก electrical double layer จะสามารถป้องกัน droplet เคลื่อนที่เข้าให้กันได้ โดยอาศัยแรงผลักทางไฟฟ้า และ ระบบที่มีแรงผลัก steric repulsion จากการใส่สารทำอิมัลชันที่มีโครงสร้างโมเลกุลขนาดใหญ่ จะสามารถป้องกันการเข้าใกล้กันของวัฏภาคภายในได้ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้จะช่วยทำให้ระบบนาโนอิมัลชันมีความคงตัวทางกายภาพที่ดีได้ (Tadros, 2018) จากการศึกษาความคงตัวทางกายภาพแบบ long term stability เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 24 สัปดาห์ โดยใช้สารทำอิมัลชัน sodium caseinate ที่ความเข้มข้น 2.5, 5, 7.5 และ 10% ใน 5% น้ำมันคาโนลา พบว่า ทุกความเข้มข้นมีขนาดอนุภาคน้อยกว่า 200 nm และเกิด creaming ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 แต่สามารถกระจายกลับคืนได้ด้วยการเขย่า โดยที่ความเข้มข้น 2.5 และ 5% ไม่มีการเปลี่ยนแปลง creaming index อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจนถึงสัปดาห์ที่ 24 แต่ที่ความเข้มข้น 7.5 และ 10% มีการเปลี่ยนแปลง creaming index ลดลงจนถึงสัปดาห์ที่ 8 จากนั้นคงที่ตลอดจนถึงสัปดาห์ที่ 24 โดยจากภาพ confocal micrographs ที่ความเข้มข้น 2.5% sodium caseinate

อนุภาคภายในเกิดการเคลื่อนตัวเข้ามาใกล้กัน แต่ไม่ได้รวมตัวกันเป็นโครงร่างแหของโปรตีนจึงเกิดเป็นชั้นครีมแบบหลวมๆ แต่ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น โปรตีนเกิดการรวมตัวเป็นโครงร่างแหที่ใหญ่ขึ้น ซึ่งส่งผลให้เกิดชั้นครีมที่รวมตัวกันแน่นขึ้นจึงไม่สามารถกระจายกลับคืนได้ (Yerramilli and Ghosh, 2017) และจากอีกการศึกษาที่มีการบรรจุสารสำคัญ astaxanthin ในระบบนาโนอิมัลชัน โดยเปรียบเทียบการใช้สารทำอิมัลชัน 2 ชนิด คือ modified lecithin และ sodium caseinate ที่ความเข้มข้น 2% ต่อความคงตัวของ astaxanthin เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 30 วัน พบว่า ตำรับที่เตรียมด้วย sodium caseinate มีปริมาณ astaxanthin เปลี่ยนแปลงลดลงคิดเป็น 26.5% และ modified lecithin มีการเปลี่ยนแปลงลดลงคิดเป็น 55.5% จากการศึกษาจะเห็นได้ว่า สารทำอิมัลชัน sodium caseinate ส่งผลต่อความคงตัวของ astaxanthin มากกว่า modified lecithin เมื่อเลือกใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว (Khalid et al., 2017) ด้วยโครงสร้างส่วนเปปไทด์ของ sodium caseinate ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันชนิดแรง โดยสามารถจับกับ iron ได้ ซึ่งถือเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการเกิดออกซิเดชัน การเลือกใช้สารทำอิมัลชัน sodium caseinate จึงมีคุณสมบัติที่ดีในการช่วยเพิ่มความคงตัวของ astaxanthin ป้องกันการสลายตัวจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Liu et al., 2016)

สำหรับแนวทางการเลือกสารทำอิมัลชันที่เป็นคู่ผสม ควรพิจารณาเพิ่มเติมถึงความเข้ากันได้ และต้องเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกันในการเพิ่มความคงตัวของระบบ โดยสารทำอิมัลชันที่มีความน่าสนใจในการนำมาศึกษาคู่กัน คือ polysorbate 80 ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำชนิดสังเคราะห์ จัดเป็นสารทำอิมัลชันประเภทไม่มีประจุ โดยสามารถลดขนาดอนุภาคภายในให้มีขนาดเล็กและสม่ำเสมอได้ โดยการลดแรงตึงผิวของอนุภาคและสามารถสร้างชั้นที่ผิวประจันที่ป้องกันการรวมตัวกันของอนุภาคได้ และเมื่อใช้ร่วมกับ sodium caseinate ซึ่งจัดเป็นสารทำอิมัลชันที่มีน้ำหนักโมเลกุลใหญ่ โดยโมเลกุลมีคุณสมบัติเป็น amphiphilic สามารถจับที่ผิวประจันของอนุภาคน้ำมันและช่วยป้องกันการรวมตัวกันของอนุภาคได้ และด้วยโครงสร้างขนาดใหญ่สามารถเกิด steric repulsion และยังมี double layer electrical repulsion ป้องกันการเข้าใกล้กันของอนุภาคได้ และสารทำอิมัลชันในกลุ่มโปรตีนยังสามารถสร้าง viscoelastic film ที่ป้องกันการความไม่คงตัวของระบบจากการเกิด coalescence ได้ด้วย (Liu et al., 2019) เมื่อนำมาใช้เป็นสารทำอิมัลชันแบบผสม จะส่งผลให้เกิดชั้นผิวประจันที่แข็งแรงและยืดหยุ่น ช่วยลดการสัมผัสกับปัจจัยภายนอกที่มีผลเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสำคัญและช่วยลดปริมาณแสงที่เข้าถึงสารสำคัญ

ในวัฏภาคภายใน ลดการเกิด photolysis (Martínez-Delgado et al., 2017) และส่วนเปปไทด์ของ sodium caseinate ช่วยรักษาความคงตัวของ astaxanthin จากการศึกษาคาร์บอกซิลทำอิมัลชัน 2 ชนิดร่วมกัน ระหว่าง sodium caseinate และ polysorbate 80 ที่ความเข้มข้น 1% ในอัตราส่วนต่างๆ (10:0, 8:2, 6:4, 4:6, 2:8, และ 0:10) ใน 10% น้ำมันเพอริลล่า จากนั้นประเมินความคงตัวทางกายภาพโดยใช้เครื่อง Turbiscan หากตำรับมีค่า TSI (Turbiscan stability index) สูง แสดงว่าตำรับมีความคงตัวต่ำ พบว่าตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันอัตราส่วน 4:6 มีค่า TSI ต่ำที่สุด ซึ่งแสดงถึงความคงตัวที่ดีที่สุด และตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชัน อัตราส่วน 10:0 และ 8:2 มีค่า TSI สูงที่สุด (Du et al., 2018) ดังแสดงในภาพที่ 3 จะเห็นได้ว่าการเลือกใช้อิมัลชันผสม sodium caseinate และ polysorbate 80 ในอัตราส่วนและความเข้มข้นที่เหมาะสมส่งผลให้ตำรับนาโนอิมัลชันที่เตรียมได้มีความคงตัวทางกายภาพที่ดีกว่าเมื่อเทียบกับการใช้อิมัลชันชนิดเดียว



ภาพที่ 3 แสดงค่า Turbiscan stability index ของตำรับนาโนอิมัลชันที่ใช้สารทำอิมัลชันผสม sodium caseinate : polysorbate 80 ที่อัตราส่วนต่างๆ (Du et al., 2018)

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 สารเคมี เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

สารเคมี

1. Astaxanthin 98% purified grade (Lot no. 20190625, Hangzhou Dayangchem Co., Ltd, China)
2. Rice bran oil (Lot no. 211019 Thai Edible Oil Co., Ltd, Thailand)
3. Polysorbate 80 (Lot no. 4053, KAO Chemical Co., Ltd, Singapore)
4. Sodium caseinate (Value Industrial Products Co., Ltd, Thailand)
5. Methyl paraben (Namsiang Group Co., Ltd, Thailand)
6. Propyl paraben (Namsiang Group Co., Ltd, Thailand)
7. Propylene glycol (Namsiang Group Co., Ltd, Thailand)
8. Vitamin E (S. Tong Chemicals Co., Ltd, Thailand)
9. Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Batch no. 19080174, RCI Labscan Limited Co., Ltd, Thailand)
10. Ultrapure® water (Water Purification System, Micro Pure®, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Magnetic stirrer (RCT B Basic, IKA, Malaysia)
2. High-speed homogenizer (Ultra-Turrax® X1020, Ystral GmbH, Germany)
3. Microfluidizer™ (Microfluidics LM20, UK)
4. High Speed Refrigerated Micro Centrifuge (TOMY MX-305, TOMY SEIKO Company Limited, Tokyo, Japan)
5. Zetasizer Nano (Zetasizer Nano ZS™, Malvern Instruments, UK)

6. pH-meter (Seven Compact™pH/ion meter S220, Mettler Toledo, Switzerland)
7. Viscometer (Vibro Viscometer SV-10, A&D Company Limited, Tokyo, Japan)
8. UV-Vis Spectrophotometer (Agilent Carry 60 UV-Vis Spectrophotometer, United States)

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเตรียมตำรับนาโนอิมัลชัน (Blank nanoemulsion)

แบ่งเป็น 3 ขั้นตอนหลัก คือ

Pre-emulsion

1. เตรียมวัตถุดิบไขมัน โดยการผสม tocopherol acetate ลงในน้ำมันรำข้าว
 2. เตรียมวัตถุดิบน้ำ โดยการกระจายสารทำอิมัลชัน (polysorbate 80 หรือ sodium caseinate) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในน้ำ ตามสูตรตำรับนาโนอิมัลชัน ดังแสดงในตารางที่ 3
- สำหรับตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว คือ polysorbate 80 4, 6, 8% หรือ sodium caseinate 1, 3, 5% ให้กระจายสารทำอิมัลชันลงในน้ำที่ใช้ในสูตรทั้งหมด แล้วทำการปั่นผสมด้วย High speed homogenizer 1,500 rpm นาน 5 นาที จากนั้น ตั้งทิ้งไว้ 15 นาทีเพื่อให้ฟองลดลง ส่วนสูตรตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันผสม ให้แบ่งน้ำครึ่งหนึ่ง ทำการปั่นสารทำอิมัลชันแต่ละชนิดแยกกันโดยปั่นผสมด้วยวิธีการเดียวกัน จากนั้นเทสารทำอิมัลชันทั้ง 2 ชนิดผสมและคนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 15 นาทีเพื่อให้ฟองลดลง แล้วจึงเติม paraben concentrate คนผสมจนเข้ากัน

Coarse-Emulsion

หลังจากเตรียมวัตถุดิบและวัตถุดิบไขมันเรียบร้อยแล้ว นำมาปั่นผสมด้วย High speed homogenizer 3,000 rpm นาน 5 นาที โดยการเทวัตถุดิบไขมันลงในวัตถุดิบน้ำ

Nanoemulsion

นำ Coarse-Emulsion ที่เตรียมได้มาผ่านเครื่อง Microfluidizer™ ที่ความดัน 1,500 Bar จำนวน 5 รอบ โดยใช้ cooling coil เพื่อช่วยลดอุณหภูมิของตำรับ แล้วตั้งทิ้งไว้ 1 คืนที่อุณหภูมิห้อง เพื่อให้ตำรับนาโนอิมัลชันที่เตรียมได้เข้าสู่จุดสมดุลแล้วจึงนำไปวิเคราะห์ต่อไป

3.2.2 การประเมินตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า

การประเมินลักษณะทางกายภาพ

1. ลักษณะภายนอก (Appearance)

ทำการประเมินลักษณะภายนอกของตำรับด้วยตาเปล่า บันทึกลักษณะที่ได้และถ่ายภาพ โดยตำรับที่เตรียมได้จะต้องมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่เกิดการตกตะกอนหรือแยกชั้น หากไม่เป็นไปตามนั้น ถือว่าตำรับดังกล่าวไม่มีความคงตัวทางกายภาพ

2. ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาค (Size & size distribution)

ประเมินขนาดอนุภาค โดยขนาดอนุภาคต้องอยู่ในช่วงนาโนเมตร คือ มีขนาดอนุภาคน้อยกว่า 200 nm และประเมินการกระจายขนาดของอนุภาค โดยค่า PDI ควรน้อยกว่า 0.2 ทำการประเมินโดยใช้เครื่อง Malvern Zetasizer Nano โดยใช้เทคนิค Dynamic light scattering ทำการเตรียมตัวอย่างโดยการเจือจางด้วย ultra-purified water อัตราส่วน 1:100 แล้วจึงทำการวิเคราะห์

3. ประจุบนผิวอนุภาคศักย์ซีต้า (Zeta potential)

ประเมินประจุผิวอนุภาคศักย์ซีต้าของนาโนอิมัลชันโดยใช้เครื่อง Malvern Zetasizer Nano โดยใช้เทคนิค Electrophoretic mobility เตรียมตัวอย่างโดยการเจือจางด้วย ultra-purified water อัตราส่วน 1:100 แล้วจึงทำการวิเคราะห์

4. ความหนืด (Viscosity)

การวิเคราะห์ค่าความหนืดโดยใช้เครื่อง Viscometer SV-10 A&D ปริมาณตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์แต่ละครั้ง คือ 10 ml ทำการวัดที่อุณหภูมิ 25 °C

5. ค่าความเป็นกรดต่าง (pH value)

การวิเคราะห์ค่า pH โดย Seven Compact™ pH-meter ปริมาณตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์แต่ละครั้ง 5 ml ทำการวัดที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณสารเคมีที่ใช้ในสูตรตำรับนาโนอิมัลชัน

ชนิดสารทำอิมัลชัน	สารทำอิมัลชันเดี่ยว						สารทำอิมัลชันผสม											
	Polysorbate 80 (%)			Sodium caseinate (%)			4% Polysorbate 80				6% Polysorbate 80				8% Polysorbate 80			
	P4	P6	P8	S1	S3	S5	1% SC	3% SC	5% SC	1% SC	3% SC	5% SC	1% SC	3% SC	5% SC	1% SC	3% SC	5% SC
Polysorbate 80	4	6	8	0	0	0	4	4	4	4	6	6	6	6	6	8	8	8
Sodium caseinate	0	0	0	1	3	5	1	3	5	1	1	3	5	1	3	1	3	5
Rice bran oil	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Paraben concentrate	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tocopherol acetate	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
Water	84.94	82.94	80.94	87.94	85.94	83.94	83.94	81.94	79.94	81.94	79.94	81.94	79.94	77.94	79.94	77.94	75.94	

การประเมินความคงตัวทางกายภาพ

โดยทำการเก็บในสภาวะเร่ง heating - cooling Cycle ที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 48 ชั่วโมง และ 4 °C นาน 48 ชั่วโมง จำนวน 6 รอบ จากนั้นทำการวิเคราะห์ตามเกณฑ์การประเมินลักษณะทางกายภาพ คือ ลักษณะภายนอก ขนาดและการกระจายขนาด ทุกรอบ และประเมิน Zeta potential, ความหนืด, และ pH ในวันที่ 1 และวันสุดท้ายของการศึกษาความคงตัว

สำหรับตำรับที่ไม่คงตัว คือ เกิด creaming หรือการแยกชั้น จะไม่นำมาทำการประเมินต่อ เมื่อได้ตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่าที่มีความคงตัวทางกายภาพที่ดีแล้ว จะทำการเลือกสูตรตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันผสมปริมาณน้อยที่สุดและสูตรตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันเดียวในปริมาณเท่ากับสูตรที่ใช้สารทำอิมัลชันผสม นำมาเตรียมเป็นนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin และศึกษาความคงตัวที่อุณหภูมิ 5 °C และ 25 °C เป็นเวลา 100 วัน

3.2.3 การวิเคราะห์ astaxanthin ด้วยวิธี UV-VIS Spectrophotometry

(Liu et al., 2016, Affandi et al., 2011, Khalid et al., 2017)

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ astaxanthin ด้วยวิธี UV-VIS Spectrophotometry โดยพิจารณาที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 200-800 nm จากนั้นหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ astaxanthin ดูดกลืน พบว่าที่ความยาวคลื่นแสง 490 nm มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด

ความจำเพาะเจาะจง

ทำการวิเคราะห์ความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ UV-VIS Spectrophotometry ที่มีต่อสารสำคัญ astaxanthin พิจารณาที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 200-800 nm โดยการวิเคราะห์ตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่าทุกสูตรตำรับ ตัวทำละลาย DMSO ตำรับนาโนอิมัลชันที่มี astaxanthin และตัวอย่างที่ได้จากการทำให้สาร astaxanthin สลายตัวด้วยความร้อน ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 70 °C โดยการวิเคราะห์ทุก 6 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง สารหรือส่วนประกอบอื่นๆ ต้องไม่รบกวนการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 nm

กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง

เตรียมกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง โดยทำการเตรียมสารละลาย astaxanthin 1 mg ในสารละลาย DMSO 10 ml เพื่อใช้เป็น Stock solution จากนั้นทำการเตรียมสารละลายเจือจางด้วย DMSO ที่ 6 ความเข้มข้น คือ 0.5, 1, 2, 3, 4, และ 5 µg/ml และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความ

ยาวคลื่น 490 nm เพื่อหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง คำนวณหาสมการถดถอย (Linear regression) และค่า coefficient of determination (r^2) โดยต้องมีค่า r^2 มากกว่า 0.999

3.2.4 การศึกษาความสามารถในการละลายของ astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว

ทำการศึกษาความสามารถในการละลายของ astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว โดยการละลาย astaxanthin ที่น้ำหนักแตกต่างกัน 4 น้ำหนัก คือ 10, 20, 50, และ 100 mg ใน น้ำมันรำข้าว 10 g ทำการปั่นด้วย Magnetic stirrer ความเร็ว 500 rpm นาน 24 ชั่วโมง ในภาชนะปิดสนิท ป้องกันแสง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปทำการปั่นเพื่อแยกเฉพาะส่วนที่ไม่ละลายออกจากสารละลาย astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว โดยใช้เครื่อง Refrigerator centrifuge ปั่นที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm นาน 15 นาที ควบคุมอุณหภูมิที่ 5 °C นำเฉพาะส่วนใส ไปวิเคราะห์หาความสามารถในการละลายของ astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer และ คำนวณหาความเข้มข้นของ astaxanthin ที่สามารถละลายในน้ำมันรำข้าวได้ จากกราฟมาตรฐาน ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง

3.2.5 การศึกษาผลของการเตรียมด้วยเครื่อง Microfluidizer™ ต่อความคงตัวของ astaxanthin

ทำการศึกษาโดยการวิเคราะห์หาปริมาณ astaxanthin ในสารละลาย astaxanthin 100 mg ในน้ำมันรำข้าว 10 g โดยทำการวิเคราะห์หาปริมาณ astaxanthin หลังปั่นแยกด้วยเครื่อง Refrigerator centrifuge ทันทีและทำการวิเคราะห์อีกครั้งหลังผ่านเครื่อง Microfluidizer™ ที่ความดัน 1,500 Bar จำนวน 5 รอบ โดยใช้ cooling coil ซึ่งวิธีการเดียวกับการเตรียมตำรับนาโนอิมัลชัน และ คำนวณหาความเข้มข้นของ astaxanthin เปรียบเทียบก่อนและหลังผ่านเครื่อง Microfluidizer™ จากกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง

3.2.6 การเตรียมตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin

ทำการเลือกสูตรตำรับจากตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่าที่มีความคงตัวที่ดี ตลอดสภาวะเร่ง heating-cooling จำนวน 6 รอบ โดยหากตำรับมีความคงตัวที่ดีหลายตำรับ จะทำการเลือกสูตรตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันแบบผสมปริมาณน้อยที่สุดและสูตรตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันแบบเดี่ยวใน

ปริมาณเท่ากับสูตรที่ใช้สารทำอิมัลชันแบบผสม นำมาเตรียมเป็นนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin และเลือกใช้สารละลาย astaxanthin ในน้ำมันรำข้าวเป็นกลุ่มควบคุมในการศึกษาความคงตัว สำหรับวิธีการเตรียมตำรับ astaxanthin นาโนอิมัลชัน แตกต่างจากตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า เฉพาะในส่วนของการละลาย astaxanthin ในวัฏภาคน้ำมันเท่านั้น ดังแสดงในตารางที่ 6

Pre-emulsion

1. เตรียมวัฏภาคน้ำมัน โดยการละลาย astaxanthin และ tocopherol acetate ลง ในน้ำมันรำข้าว ปั่นผสมด้วยเครื่อง magnetic stirrer นาน 24 ชั่วโมง เพื่อให้แน่ใจว่า astaxanthin ละลายได้หมด ตลอดการปั่นผสมต้องทำในภาชนะปิดสนิทและป้องกันแสง จากนั้นนำส่วนผสมที่ได้ไป ทำการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Refrigerator centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm นาน 15 นาที ควบคุมอุณหภูมิที่ 5 °C เพื่อแยกส่วนที่ไม่ละลายออก นำส่วนสารละลายใสของ astaxanthin ใน น้ำมัน ไปใช้ในการเตรียมนาโนอิมัลชันต่อไป

2. เตรียมวัฏภาคน้ำทำเช่นเดียวกับกับตำรับนาโนอิมัลชันเปล่า

สำหรับ ขั้นตอนการเตรียม Coarse emulsion และ Nanoemulsion ทำ เช่นเดียวกับตำรับนาโนอิมัลชันเปล่า จากนั้นตั้งทิ้งทิ้งไว้ 1 คืนที่อุณหภูมิที่ศึกษาความคงตัว เพื่อให้ ตำรับนาโนอิมัลชันที่เตรียมได้เข้าสู่จุดสมดุลแล้วจึงนำไปวิเคราะห์ต่อไป

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณส่วนประกอบที่ใช้ในสูตรตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin

	ส่วนประกอบ	สารทำอิมัลชันเดี่ยว		สารทำอิมัลชันผสม
1	Astaxanthin	100 mg	100 mg	100 mg
2	Polysorbate 80	4 g	-	4 g
3	Sodium caseinate	-	1 g	1 g
4	Rice bran oil	10 g	10 g	10 g
5	Paraben concentrate	1 g	1 g	1 g
6	Tocopherol acetate	0.06 g	0.06 g	0.06 g
7	Water	84.94 g	87.94 g	83.94 g

3.2.7 การประเมินตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin

1. การประเมินลักษณะทางกายภาพ

หลังจากตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อให้ตำรับเข้าสู่ภาวะสมดุลในอุณหภูมิที่ศึกษาความคงตัว จากนั้นทำการประเมินเช่นเดียวกับตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่าตามข้อ 3.2.2

2. การวิเคราะห์หาปริมาณ astaxanthin (%w/v) และ % Labeled amount

ทำการเตรียมตัวอย่างเพื่อหาปริมาณ astaxanthin โดยละลายตำรับนาโนอิมัลชัน astaxanthin ใน DMSO อัตราส่วน 1:10 หรือละลายตำรับสารละลาย astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว ใน DMSO อัตราส่วน 1:200 จากนั้นวิเคราะห์ด้วย UV/VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 490 nm และคำนวณหาปริมาณ astaxanthin (%w/v) และ % labeled amount ดังสมการที่ (1) และ (2) ตามลำดับ

$$\text{ปริมาณ astaxanthin (\%w/v)} = \frac{\text{ปริมาณ astaxanthin ที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ปริมาณนาโนอิมัลชันที่ใช้วิเคราะห์}} \times 100 \quad (1)$$

$$\% \text{ Labeled amount} = \frac{\text{ปริมาณ astaxanthin (\%w/v)}}{\text{ปริมาณ astaxanthin (\%w/v) ที่ใส่จริง}} \times 100 \quad (2)$$

ปริมาณ astaxanthin ที่วิเคราะห์ได้ คือ ปริมาณ astaxanthin ที่วิเคราะห์ด้วย UV/VIS Spectrophotometer

ปริมาณนาโนอิมัลชันที่ใช้วิเคราะห์ คือ ปริมาณตำรับนาโนอิมัลชันที่ใช้ในการวิเคราะห์

ปริมาณ astaxanthin (%w/v) ที่ใส่จริง คือ ปริมาณ astaxanthin ที่ใส่จริงในการเตรียมตำรับนาโนอิมัลชัน

3. การประเมินความคงตัวทางกายภาพและเคมี (Physical and chemical stability)

ศึกษาผลของชนิดสารทำอิมัลชันและอุณหภูมิต่อความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin โดยทำการเก็บไว้ที่ 2 อุณหภูมิ คือ 5 °C และ 25 °C

เป็นเวลา 100 วัน โดยเก็บตัวอย่างในขวดแก้ว vial ใส่ ปิดซีลด้วย metallic cap จากนั้นห่อด้วยกระดาษฟอยด์เพื่อป้องกันแสง สุ่มตัวอย่างวันที่ 0, 3, 6, 9, 14, 21, 29, 64 และ 100 ทำการประเมินคุณลักษณะทางกายภาพเช่นเดียวกับตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่าตามข้อ 3.2.2 สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณ astaxanthin ที่เหลืออยู่ในตำรับนาโนอิมัลชัน (% astaxanthin remaining) ทำการวิเคราะห์ ตามสมการที่ (3) โดยทำการเตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับ ข้อ 3.2.7 (2) สำหรับกลุ่มควบคุม คือ สารละลาย astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว ซึ่งเตรียมด้วยวิธีเดียวกับที่ใช้ในการเตรียมวัสดุภาคน้ำมันสำหรับการเตรียมนาโนอิมัลชัน เพื่อใช้เปรียบเทียบความคงตัวของเคมีกับตำรับนาโนอิมัลชัน จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณ astaxanthin ที่เหลืออยู่เป็นเวลาต่างๆ ตามสมการที่ (3)

$$\% \text{ Astaxanthin remaining} = \frac{\text{ปริมาณ astaxanthin (\%w/v) ที่เวลาต่างๆ} \times 100}{\text{ปริมาณ astaxanthin (\%w/v) ที่เริ่มต้น}} \quad (3)$$

ปริมาณ astaxanthin ที่เวลาต่างๆ คือ ปริมาณ astaxanthin (%w/v) ที่วิเคราะห์ด้วย UV/VIS Spectrophotometer ในวันนั้นๆ ของการศึกษาคงตัว
ปริมาณ astaxanthin ที่เริ่มต้น คือ ปริมาณ astaxanthin (%w/v) ที่วิเคราะห์ด้วย UV/VIS Spectrophotometer ในวันที่ 0 ของการศึกษาคงตัว

จากนั้น วิเคราะห์ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณ astaxanthin ที่คงเหลือในตำรับนาโนอิมัลชัน ณ วันที่ 100 เปรียบเทียบกับวันเริ่มต้นของแต่ละอุณหภูมิ และพลอตกราฟระหว่าง % astaxanthin ที่คงเหลือ กับระยะเวลาที่ศึกษาคงตัว (วัน) เพื่อเปรียบเทียบผลของชนิดสารทำอิมัลชัน และคำนวณหาค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัว (k_1) ของ astaxanthin ในตำรับนาโนอิมัลชัน ซึ่งจากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าการสลายตัวของ astaxanthin เป็นปฏิกิริยาการสลายตัวอันดับที่หนึ่ง (1^{st} order reaction) (Liu et al., 2016) โดยคำนวณได้จากค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมฐานธรรมชาติของความเข้มข้น astaxanthin ($\mu\text{g/ml}$) กับระยะเวลาที่ศึกษาคงตัว (วัน)

3.3 สถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล

การประเมินในแต่ละหัวข้อจะทำการประเมินซ้ำ 3 ครั้ง ผลการประเมินที่ได้แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) และวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS version 22 ด้วยสถิติ One-way ANOVA ตามด้วย Post-hoc คือ Tukey's test หรือ Dunnett's T3 เพื่อประเมินผลของชนิด ความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันแต่ละชนิด และผลของสารทำอิมัลชันผสม ต่อข้อมูลลักษณะทางกายภาพ ความคงตัวทางกายภาพ และความคงตัวทางเคมี ของตำรับนาโนอิมัลชัน โดยมีค่าความเชื่อมั่นที่ 95% (significant level $p < 0.05$)



บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 การประเมินสูตรตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า

4.1.1 ลักษณะทางกายภาพ

เพื่อให้ตำรับนาโนอิมัลชันเข้าสู่ภาวะสมดุล จะประเมินลักษณะภายนอกหลังจากตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าทุกตำรับมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน มีความสม่ำเสมอ ไม่เกิดการแยกชั้น โดยตำรับที่เตรียมได้จากใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว polysorbate 80 (PS80) ทุกความเข้มข้น (P4-P8) และสารทำอิมัลชันผสมทุกความเข้มข้น (P4S1-P8S5) มีสีขาวขุ่นและโปร่งแสง ส่วนตำรับที่เตรียมจากสารทำอิมัลชันเดี่ยว sodium caseinate (SC) ทุกความเข้มข้น (S1-S5) มีสีขาวขุ่นค่อนข้างทึบแสง ซึ่งสอดคล้องกับขนาดอนุภาคที่วิเคราะห์ได้ ดังแสดงในภาพที่ 4 โดยทุกตำรับที่เตรียมได้มีการกระจายตัวของอนุภาคอย่างสม่ำเสมอ (PDI < 0.2) และมีค่า pH เป็นกลาง (6.62-7.09)



ภาพที่ 4 แสดงลักษณะปรากฏของตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันชนิดและความเข้มข้นต่างๆ หลังตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

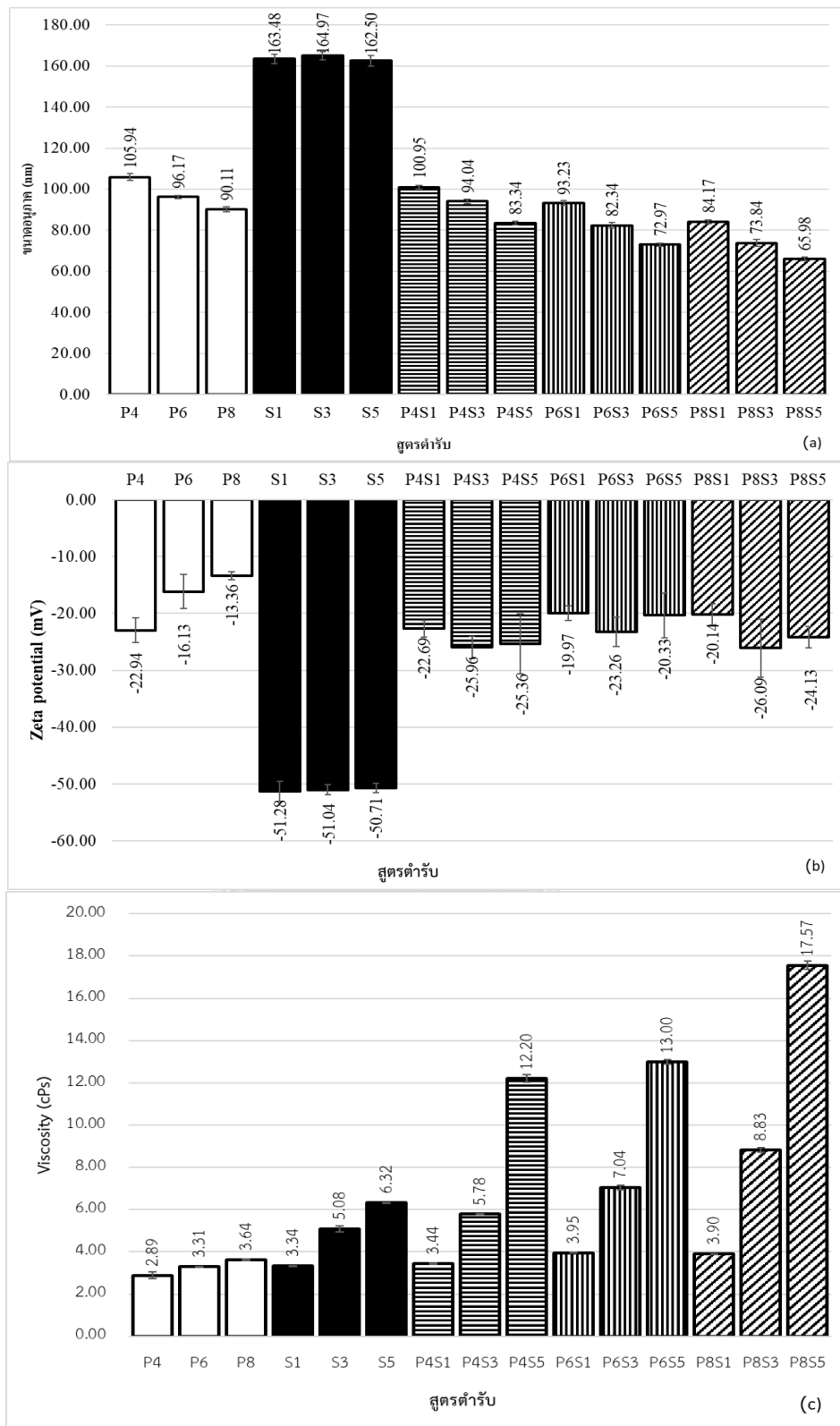
จากภาพ 5a แสดงให้เห็นว่า ชนิดของสารทำอิมัลชันมีผลต่อขนาดอนุภาคของตำรับ โดยตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชัน PS80 เดี่ยว (P4-P8) มีขนาดของอนุภาคเล็กกว่าตำรับที่ใช้ SC เดี่ยว (S1-S5) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อพิจารณาถึงผลของความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันแต่ละชนิดต่อขนาดอนุภาค พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PS80 (P4-P8) อนุภาคมีขนาดเล็กลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ความเข้มข้นของ SC (S1-S3) ไม่มีผลต่อขนาดอนุภาค เนื่องจากที่ความเข้มข้นสูง สารทำอิมัลชัน SC ซึ่งเป็นสารโมเลกุลใหญ่ ไม่ได้เข้าไปเปลี่ยนแปลงการจัดเรียงตัวที่ผิวประจันใหม่ ซึ่งต่างจากสารทำอิมัลชัน PS80 ซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็ก ในขณะที่เกิดการปั่นผสม ที่ความเข้มข้นของ PS80 สูงขึ้นจึงมีสารทำอิมัลชัน PS80 ในปริมาณมากขึ้น

เคลื่อนที่ไปจัดเรียงตัวที่ผิวประจันได้อย่างรวดเร็ว ขนาดอนุภาคที่เตรียมได้จึงลดลงผกผันกับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (Du et al., 2018, Xue and Zhong, 2014) และขนาดอนุภาคที่เตรียมได้จากสารทำอิมัลชัน PS80 มีขนาดเล็กกว่า SC ซึ่งมีโครงสร้างโมเลกุลขนาดใหญ่และสลับซับซ้อน อย่างไรก็ตามสารทำอิมัลชัน SC สามารถเพิ่มความคงตัวของระบบได้จากการเพิ่มความหนาของชั้น viscoelastic จึงทำให้ระบบมีความคงตัวที่ดีได้ สำหรับตำรับนาโนอิมัลชันที่ใช้สารทำอิมัลชันแบบผสม (P4S1-P8S5) ที่ความเข้มข้นต่างๆ จากการวิเคราะห์ด้วย Two way ANOVA แสดงให้เห็นว่า ชนิดและความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันของสารทำอิมัลชัน PS80 และ SC และอันตรกิริยาระหว่างสารทำอิมัลชันทั้ง 2 ชนิด มีความสำคัญต่อขนาดอนุภาคในเชิงนัยทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาถึงผลของสารทำอิมัลชันแบบผสมแต่ละสูตร (P4S1-P8S5) ต่อขนาดอนุภาค พบว่า ขนาดอนุภาคที่เตรียมได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใช้อิมัลชันเดี่ยว และการเพิ่มสารทำอิมัลชันชนิดที่ 2 เข้าไป (PS80 หรือ SC) พบว่า ตำรับที่มีการใช้อิมัลชันผสม (P4S1-P8S5) มีขนาดอนุภาคเล็กกว่าการใช้อิมัลชันเดี่ยว (P4-P8 หรือ S1-S5) และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นส่งผลให้อนุภาคมีขนาดเล็กลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เนื่องจากตำรับที่ใช้อิมัลชันผสม (P4S1-P8S5) สารทำอิมัลชันทั้ง 2 ชนิดจะเสริมฤทธิ์กันในการลดแรงตึงผิวและเข้าจัดเรียงตัวที่บริเวณผิวประจันอย่างเหมาะสม โดย PS80 จะทำหน้าที่หลักในการลดแรงตึงผิวอย่างรวดเร็ว และ SC จะทำหน้าที่สร้างฟิล์มที่มีความหนาห่อหุ้มอนุภาคน้ำมันไว้ภายในไว้ ทำให้อนุภาคภายในมีขนาดเล็กและเกิดชั้นฟิล์มที่แข็งแรง ช่วยป้องกันการเกิด flocculation และ coalescence ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่มีการศึกษาการใช้อิมัลชัน SC ร่วมกับ lecithin ในการเตรียมตำรับนาโนอิมัลชันในน้ำมันโรม โดย lecithin สามารถลดแรงตึงผิวได้ดีกว่า SC และการใช้อิมัลชันแบบผสม อนุภาคมีขนาดเล็กกว่าการใช้ SC เดี่ยว หรือ lecithin เดี่ยว (Xue and Zhong, 2014)

Zeta potential เป็นเครื่องมือที่ช่วยทำให้เข้าใจพฤติกรรมและแรงกระทำระหว่างอนุภาคภายใน จากภาพ 5b แสดงให้เห็นว่า ชนิดของสารทำอิมัลชันมีผลต่อค่า zeta potential โดยตำรับนาโนอิมัลชันที่ใช้อิมัลชัน PS80 เดี่ยว (P4-P8) มีค่า zeta potential อยู่ในช่วง -22.94 ถึง -13.36 mV ซึ่งเป็นลบน้อยกว่าสารทำอิมัลชัน SC (S1-S5) ที่มีค่า zeta potential อยู่ในช่วง -51.28 ถึง -50.71 mV โดยความเป็นลบของ SC เกิดจากคุณสมบัติ amphiphilic ของ casein ซึ่งเป็นสารในกลุ่มโปรตีน โดยสารในกลุ่มนี้จะมีค่า pH อยู่ค่าหนึ่ง ที่ทำให้ประจุรวมของกรดอะมิโนเป็นศูนย์ เรียกว่า isoelectric point (pI) โดย casein จะมีค่า pI เท่ากับ 4.6 ซึ่ง pH ของระบบนาโนอิมัลชันเมื่อเริ่มต้น (pH 6.62-7.09) สูงกว่าค่า pI จึงทำให้ระบบนาโนอิมัลชันที่เตรียมได้จาก SC

แสดงค่า zeta potential เป็นลบ และถึงแม้ว่าสารทำอิมัลชัน PS80 จะเป็นสารทำอิมัลชันในกลุ่ม nonionic แต่ก็แสดงค่าเป็นลบได้เล็กน้อย ซึ่งจากการศึกษาก่อนหน้านี้ได้อธิบายความเป็นลบของค่า zeta potential เกิดจากที่ผิวประจุของอนุภาคอาจมีการออกันของหมู่ hydroxyl (OH) ของน้ำ (Liu et al., 2016) สำหรับผลของความเข้มข้นต่อค่า zeta-potential พบว่า ความเข้มข้นของสารทำอิมัลชัน SC เดี่ยว (S1-S5) ไม่มีผลต่อค่า Zeta potential ซึ่งสอดคล้องกับขนาดอนุภาคที่ไม่เปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้น เนื่องจากที่ความเข้มข้นสูง สารทำอิมัลชัน SC ไม่ได้เข้าไปจัดเรียงตัวที่ผิวประจุใหม่ ในทางกลับกัน ความเข้มข้นของ PS80 ที่เพิ่มขึ้น (P4-P8) ส่งผลให้ค่า zeta potential แสดงความเป็นลบลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เนื่องจากที่ความเข้มข้น PS80 สูงขึ้น โครงสร้าง hydrophilic ether ซึ่งเป็นอนุพันธ์ที่ไม่มีประจุของ PS80 เข้าไปแทนที่อนุพันธ์ OH⁻ ของน้ำที่บริเวณผิวประจุ ส่งผลให้ zeta potential มีค่าเป็นลบลดลงตามไปด้วย สำหรับตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันแบบผสม (P4S1-P8S5) ค่าความเป็นลบจะอยู่ระหว่างตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว SC (S1-S5) และ PS80 (P4-P8) เมื่อกำหนดให้ความเข้มข้นของ PS80 คงที่และเพิ่มความเข้มข้นของ SC ตำรับมีแนวโน้มเป็นลบมากขึ้น ยกเว้นตำรับที่มีความเข้มข้น SC สูงสุด ในทางกลับกันเมื่อกำหนดให้ความเข้มข้นของ SC คงที่และเพิ่มความเข้มข้นของ PS80 ค่าความเป็นลบมีแนวโน้มลดลงตามไปด้วย ยกเว้นตำรับที่มีค่า PS80 สูงที่สุดเช่นกัน เนื่องจากเมื่อใช้สารทำอิมัลชันแบบผสม จึงเกิดการแย่งกันเข้าจับที่ผิวประจุและมีการจัดเรียงตัวใหม่ และอนุภาคโปรตีนจึงถูกไล่ที่โดยสารทำอิมัลชันโมเลกุลขนาดเล็ก อนุภาคโปรตีนจึงออกมากระจายตัวอยู่ในวัฏภาคน้ำแทน (Du et al., 2018)

ตำรับนาโนอิมัลชันทุกตำรับมีค่าความหนืดต่ำ มีลักษณะเป็นของเหลวคล้ายน้ำ ภาพ 5c แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติความหนืด โดยชนิดและความเข้มข้นของสารทำอิมัลชัน มีผลเปลี่ยนแปลงความหนืดของตำรับ การใช้สารทำอิมัลชันทั้งแบบเดี่ยวและแบบผสม เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันส่งผลให้ตำรับมีความหนืดเพิ่มมากขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ จากการประเมินความหนืดของตำรับ พบว่าการเพิ่มชนิดและความเข้มข้นของสารทำอิมัลชัน polysorbate 20 และ SC ในน้ำมันรำข้าว 5% ส่งผลให้ตำรับมีความหนืดเพิ่มขึ้น (Perugini et al., 2018)

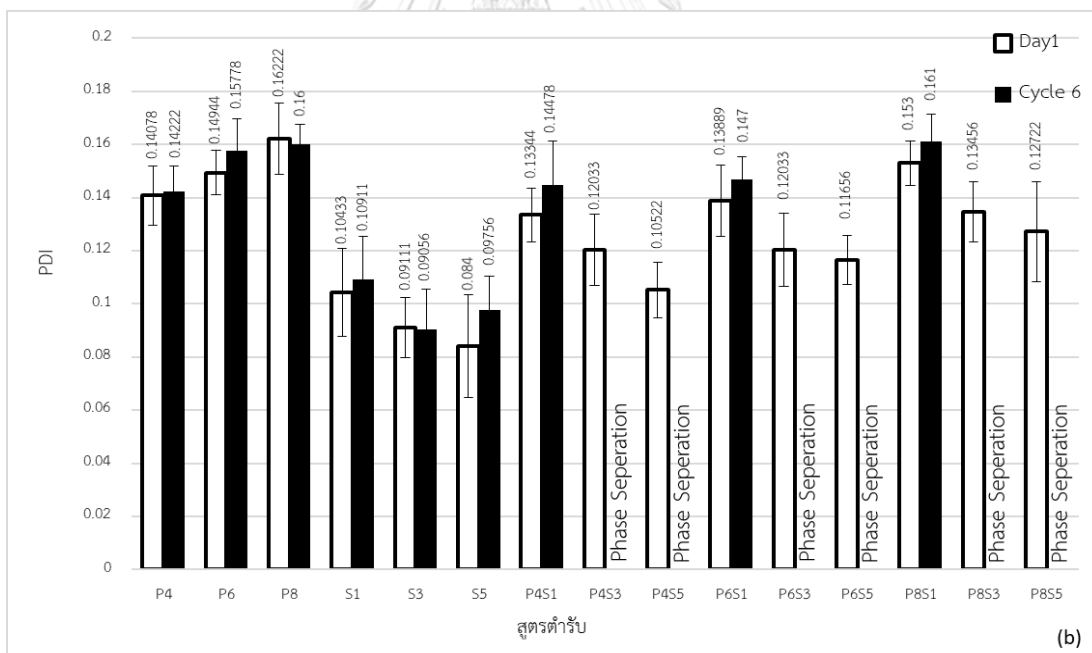
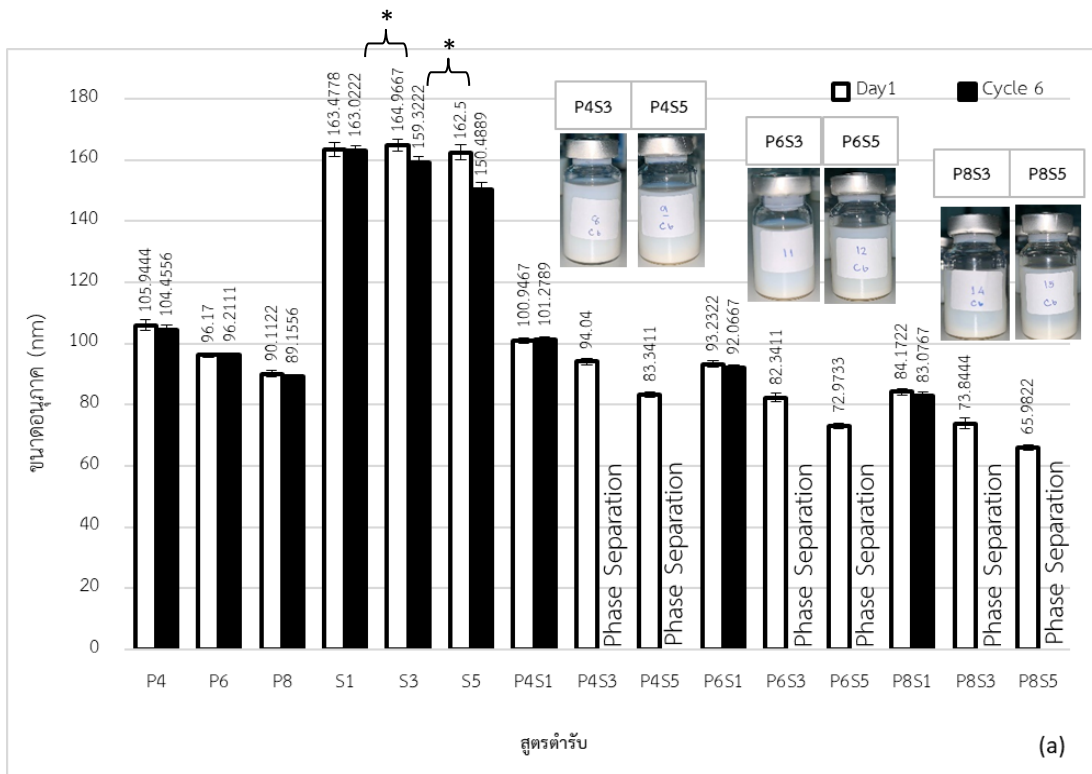


ภาพที่ 5 แสดงคุณสมบัติของตำรับนาโนอิมัลชันที่เตรียมด้วยชนิดและความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันต่างๆ (a) ขนาดอนุภาค (b) zeta-potential (c) viscosity

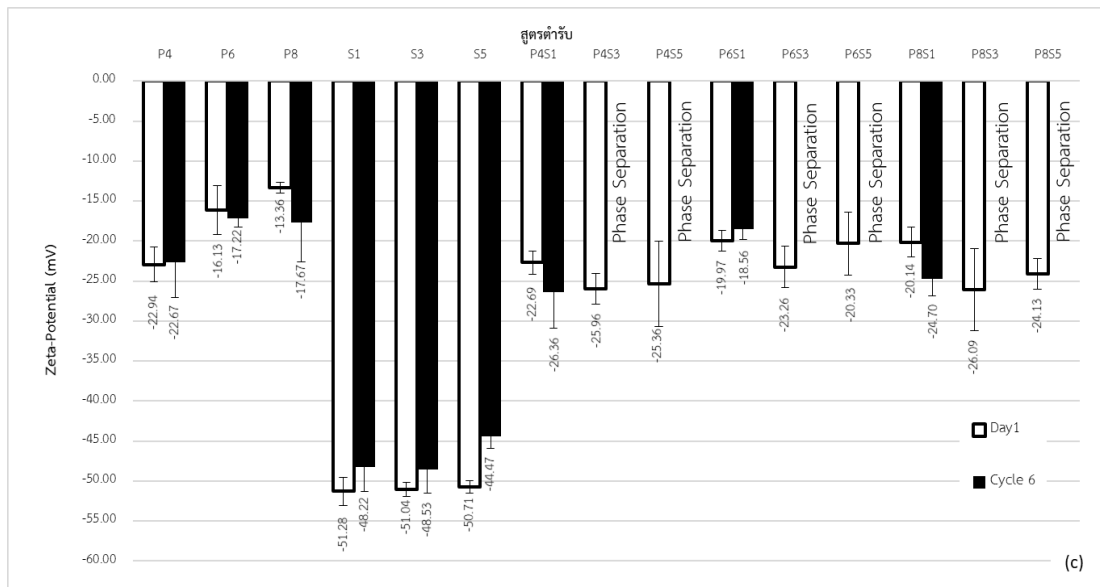
4.1.2 ความคงตัวของกายภาพ

จากการศึกษาความคงตัวของกายภาพ โดยการเก็บที่สภาวะเร่ง heating-cooling จำนวน 6 รอบ (ภาพที่ 6) พบว่าตำรับนาโนอิมัลชันที่ใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว (P4-P8, S1-S5) และสารทำอิมัลชันผสมที่มี SC 1% (P4S1-P8S1) ตำรับมีความเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่เกิดการแยกชั้นหรือตกตะกอน สำหรับตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันผสมที่มี SC 3% และ 5% (P4S3-P4S5, P6S3-P6S5, และ P8S3-P8S5) พบว่าตำรับเกิดการแยกชั้น ตกตะกอนลงด้านล่างของภาชนะบรรจุ โดยตำรับที่มีการตกตะกอนใน รอบที่ 2 คือ P6S3, P6S5, และ P8S5 ตามด้วย รอบที่ 3 คือ P4S5 และ รอบที่ 6 คือ P4S3 และ P8S3 ดังนั้น ตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันแบบผสม ที่ใช้ความเข้มข้นของ SC 3% และ 5% ไม่มีความคงตัวของกายภาพ และเมื่อเปรียบเทียบกับขนาดอนุภาคก่อนและหลังการศึกษาความคงตัว ดังแสดงในภาพที่ 6a พบว่า ตำรับนาโนอิมัลชันที่ใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว (P4-P8) ขนาดอนุภาคก่อนและหลังการศึกษาความคงตัวไม่แตกต่างกัน เนื่องจากสารทำอิมัลชัน PS80 สามารถลดขนาดหยดอนุภาคภายในจนถึงขนาดนาโน จึงสามารถชะลอการเกิด Ostwald ripening ได้ (Chen et al., 2018) ส่วนสารทำอิมัลชันเดี่ยว SC (S1-S5) สารทำอิมัลชันเดี่ยว SC 3% และ SC 5% (S3, S5) ขนาดอนุภาคมีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสารทำอิมัลชัน SC สามารถช่วยให้ระบบคงตัวได้ด้วยแรงกระทำ steric repulsion และ electrostatic repulsion (Liu et al., 2019)

จากค่า PDI ดังแสดงในภาพที่ 6b เปรียบเทียบก่อนและหลังการศึกษาความคงตัว พบว่า ทุกตำรับมีค่า PDI < 0.2 ยกเว้นตำรับที่เกิดการตกตะกอน แสดงถึงการกระจายขนาดของหยดอนุภาคภายในที่แคบสม่ำเสมอ จากค่า zeta potential เปรียบเทียบก่อนและหลังการศึกษาความคงตัว พบว่า ทุกตำรับมีค่า zeta potential ไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 6c ซึ่งตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว SC มีความเป็นลบสูง ($> 30\text{mV}$) ค่าประจุลบที่ชั้น electrical double layer สามารถช่วยป้องกันการเกิด coalescence ได้ (Liu et al., 2019) สำหรับตำรับนาโนอิมัลชันที่ใช้สารทำอิมัลชันแบบผสม พบว่ามีเพียงตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชัน SC 1% ผสมกับ PS80 4, 6 หรือ 8% (P4S1-P8S1) เท่านั้นที่มีความคงตัวของกายภาพที่ดี ส่วนตำรับที่มีความเข้มข้นของ SC เพิ่มขึ้น 3% และ 5% ตำรับมีการแยกชั้นและเกิดการตกตะกอน เนื่องจาก SC ที่ความเข้มข้นสูง จะมีปริมาณ casein เหลือจากการเรียงตัวที่ผิวประจุ จึงกระจายอยู่ในวัฏภาคน้ำ และเกิดการจับตัวกันเป็นก้อนหลวมๆ (flocculation) แล้วตกตะกอนแยกตัวออกมา (Du et al., 2018)



ภาพที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบ (a) ขนาดอนุภาค (b) PDI (c) zeta potential ของนาโนอิมัลชันที่เตรียมด้วยชนิดและความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันต่างๆ ก่อนและหลังการเก็บภายใต้สภาวะ heating-cooling cycle นาน 6 รอบ (* แสดงค่าการเปลี่ยนแปลง เมื่อ $p < 0.05$)



ภาพที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบ (a) ขนาดอนุภาค (b) PDI (c) zeta potential ของนาโนอิมัลชันที่เตรียมด้วยชนิดและความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันต่างๆ ก่อนและหลังการเก็บภายใต้สภาวะ heating-cooling cycle นาน 6 รอบ รอบ (* แสดงค่าการเปลี่ยนแปลง เมื่อ $p < 0.05$) (ต่อ)

จากข้อมูลความคงตัวของทางกายภาพที่ดีของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล้า จึงพิจารณาเลือกตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันที่มีความเข้มข้นน้อยที่สุด โดยเลือกใช้สารทำอิมัลชัน 4% polysorbate 80 (P4) ,1% sodium caseinate (S1) และ สารทำอิมัลชันผสมสองชนิดที่มีความเข้มข้นเดียวกัน (P4S1) เพื่อนำไปบรรจุสารสำคัญ astaxanthin และศึกษาความคงตัวของทางกายภาพและทางเคมีต่อไป

4.2 การศึกษาความสามารถในการละลายของ astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการละลายของ astaxanthin ในน้ำมันรำข้าวเบื้องต้น โดยใช้น้ำหนัก astaxanthin เริ่มต้นที่แตกต่างกัน และใช้น้ำมันรำข้าว 10 g พบว่า หากใช้น้ำหนัก astaxanthin เริ่มต้นสูงขึ้น จะมีปริมาณ astaxanthin ที่ละลายได้ในน้ำมันรำข้าวเพิ่มขึ้นตามไปด้วย (ตารางที่ 7) เนื่องจาก astaxanthin ที่ใช้เป็นสารสกัดซึ่งละลายได้น้อยมากในน้ำมันรำข้าว และในงานวิจัยนี้ใช้เวลาเพียง 1 วันในการหาค่าการละลายเนื่องจากการใช้เวลานานอาจมีผลต่อความคงตัวของสารได้ ดังนั้น เพื่อให้ได้ปริมาณ astaxanthin มากที่สุดสำหรับใช้ในการศึกษาพัฒนาระบบนาโนอิมัลชันต่อไป จึงเลือกใช้น้ำหนัก astaxanthin เริ่มต้น 100 mg ต่อน้ำมันรำข้าว 10 g ซึ่งเมื่อนำไป

ปั่นแยกและนำส่วนใสไปเจือจางด้วย DMSO 200 เท่า สามารถวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงได้เท่ากับ 0.318 ± 0.0023 ซึ่งอยู่ในช่วงค่าการดูดกลืนแสงบนกราฟมาตรฐาน และมีความเข้มข้น astaxanthin ที่ละลายได้จริง เท่ากับ $285.40 \pm 1.9622 \mu\text{g/ml}$ สารละลาย astaxanthin ที่ได้จากการปั่นแยกนี้ นำไปใช้ในการเตรียมตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin ต่อไป

ตารางที่ 7 แสดงความสามารถในการละลายของ astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว (ค่าเฉลี่ย \pm SD, n = 3)

	น้ำหนัก astaxanthin ที่เริ่มต้น ต่อน้ำมันรำข้าว 10g			
	10 mg	20 mg	50 mg	100 mg
ค่าการดูดกลืนแสง	0.084 ± 0.0013	0.104 ± 0.0130	0.196 ± 0.0046	0.318 ± 0.0023
ความเข้มข้น astaxanthin ($\mu\text{g/ml}$)	81.80 ± 1.1605	98.74 ± 11.2914	178.85 ± 3.9748	285.40 ± 1.9622

4.3 การศึกษาผลของการเตรียมด้วยเครื่อง Microfluidizer™ ต่อความคงตัวของ astaxanthin

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ astaxanthin ของสารละลาย astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว ที่ได้จากการทดลองในข้อ 4.2 หลังจากปั่นแยกด้วยเครื่อง Refrigerator centrifuge ทันที และทำการวิเคราะห์อีกครั้งหลังผ่านเครื่อง Microfluidizer™ ด้วยสภาวะเดียวกับที่ใช้ในการเตรียมนาโนอิมัลชัน พบว่า astaxanthin มีปริมาณลดลง 5.12% เปรียบเทียบก่อนและหลังการเตรียมด้วยเครื่อง Microfluidizer™ ดังแสดงในตารางที่ 8 เนื่องจากการเตรียมด้วยเทคนิค Microfluidization ใช้หลักการการชนกันของของเหลวใน chamber ที่มีแรงดันสูงเพื่อให้เกิดอนุภาคขนาดเล็ก จึงเกิดความร้อนขึ้นในระบบและความร้อนถือเป็นปัจจัยหนึ่งในการเร่งการสลายตัว astaxanthin ทำให้ astaxanthin มีการสลายตัวจากกระบวนการเตรียม โดยจากการทดสอบด้วย Paired t-test เปรียบเทียบก่อนและหลังการเตรียม พบว่าปริมาณ astaxanthin มีการเปลี่ยนแปลงลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งนี้ ในกระบวนการเตรียมมีการใช้ cooling coil ที่อุณหภูมิ 5°C เพื่อลดอุณหภูมิทันทีหลังจากสารละลาย astaxanthin ออกจาก chamber จึงช่วยลด

ระยะเวลาในการสัมผัสของสารสำคัญกับความร้อน จึงทำให้ astaxanthin มีปริมาณการสลายตัวลดลง ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้

ตารางที่ 8 แสดงปริมาณ astaxanthin เปรียบเทียบก่อนและหลังผ่านเครื่อง Microfluidizer (ค่าเฉลี่ย \pm SD, n = 3)

การผ่านเครื่อง Microfluidizer	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณ astaxanthin ($\mu\text{g/ml}$)
ก่อน	0.357 ± 0.015	319.129 ± 13.464
หลัง	0.338 ± 0.009	302.803 ± 7.898

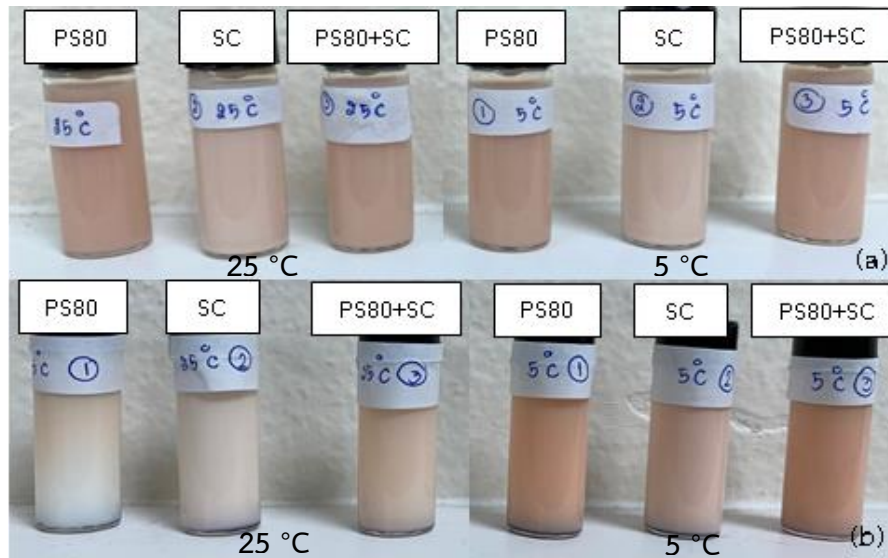
4.4 การประเมินสูตรตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin

4.4.1 ลักษณะทางกายภาพ

จากการเตรียมตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin โดยใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว 4% polysorbate 80 (PS80) หรือ 1% sodium caseinate (SC) และสารทำอิมัลชันผสม 4% PS80 ร่วมกับ 1% SC (PS80+SC) ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงเพื่อให้ตำรับเข้าสู่จุดสมดุลในอุณหภูมิที่ศึกษาความคงตัว ตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin ทั้ง 3 ตำรับ มีความสม่ำเสมอเป็นเนื้อเดียวกัน มีสีส้มแดงอ่อนๆ โดยตำรับที่เตรียมด้วยสารทำอิมัลชัน PS80 และ PS80+SC มีลักษณะสีเข้มและโปร่งแสงกว่า ส่วนตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชัน SC มีสีส้มแดงอ่อนกว่าและทึบแสง ดังแสดงในภาพที่ 7 โดยลักษณะภายนอกที่ปรากฏสอดคล้องไปกับขนาดอนุภาค พบว่าตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชัน SC มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่าจึงมีความทึบแสง โดยแต่ละตำรับมีขนาดอนุภาค 110.4-110.9, 170.6-171.0, และ 113.6-114.5 nm ของสารทำอิมัลชัน PS80, SC และ PS80+SC ตามลำดับ สำหรับค่า zeta-potential สารทำอิมัลชัน SC มีค่าต่ำที่สุด (-47.27 ถึง -49.77) รองลงมาคือ PS80+SC (-26.40 ถึง -29.87) และ PS80 (-18.83 ถึง -20.17) ทุกตำรับมีค่า PDI < 0.2 ซึ่งแสดงถึงการกระจายขนาดของหยดวิภาคภายในที่แคบสม่ำเสมอ มีค่า pH ค่อนข้างเป็นกลาง (pH 6.67-7.25) มีค่าความหนืดต่ำ ลักษณะเหมือนน้ำ ดังแสดงในตารางที่ 9 ซึ่งตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin มีคุณลักษณะทางกายภาพไม่แตกต่างจากตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า แสดงให้เห็นว่า astaxanthin ไม่มีผลต่อผิวประจันของอนุภาคภายในสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ (Liu et al., 2016)

ตารางที่ 9 แสดงคุณลักษณะของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่าและที่บรรจุ astaxanthin หลังจากเตรียมเสร็จและเก็บไว้ที่สภาวะที่ศึกษาความคงตัวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ค่าเฉลี่ย \pm SD, n = 3)

ลักษณะภายนอก	ชนิดของสารทำอิมัลชัน	ตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่าเก็บที่อุณหภูมิห้อง	ตำรับที่มี astaxanthin เก็บที่ 25 °C	ตำรับที่มี astaxanthin เก็บที่ 5 °C
Size (nm)	P80	105.94 \pm 1.75	110.4 \pm 1.21	110.87 \pm 0.55
	SC	163.48 \pm 2.33	170.6 \pm 3.93	171.03 \pm 1.26
	P80+SC	100.95 \pm 0.83	114.5 \pm 2.62	113.57 \pm 0.29
PDI	P80	0.141 \pm 1.75	0.148 \pm 0.016	0.151 \pm 0.004
	SC	0.104 \pm 2.33	0.108 \pm 0.005	0.105 \pm 0.007
	P80+SC	0.133 \pm 0.83	0.131 \pm 0.024	0.148 \pm 0.014
Zeta potential (mV)	P80	-22.94 \pm 2.17	-20.17 \pm 2.75	-18.83 \pm 3.07
	SC	-51.28 \pm 1.76	-47.27 \pm 3.49	-49.77 \pm 1.45
	P80+SC	-22.69 \pm 1.44	-26.40 \pm 1.74	-29.87 \pm 3.93
pH	P80	7.04 \pm 0.03	6.67 \pm 0.08	6.78 \pm 0.11
	SC	6.99 \pm 0.56	7.26 \pm 0.03	7.25 \pm 0.05
	P80+SC	6.87 \pm 0.18	6.91 \pm 0.04	6.96 \pm 0.01
Viscosity (cP)	P80	2.89 \pm 0.145	2.73 \pm 0.07	2.45 \pm 0.03
	SC	3.34 \pm 0.017	2.98 \pm 0.10	2.75 \pm 0.03
	P80+SC	3.44 \pm 0.040	3.21 \pm 0.05	3.34 \pm 0.07



ภาพที่ 7 แสดงลักษณะของตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin ที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ เปรียบเทียบ (a) ก่อน และ (b) หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน

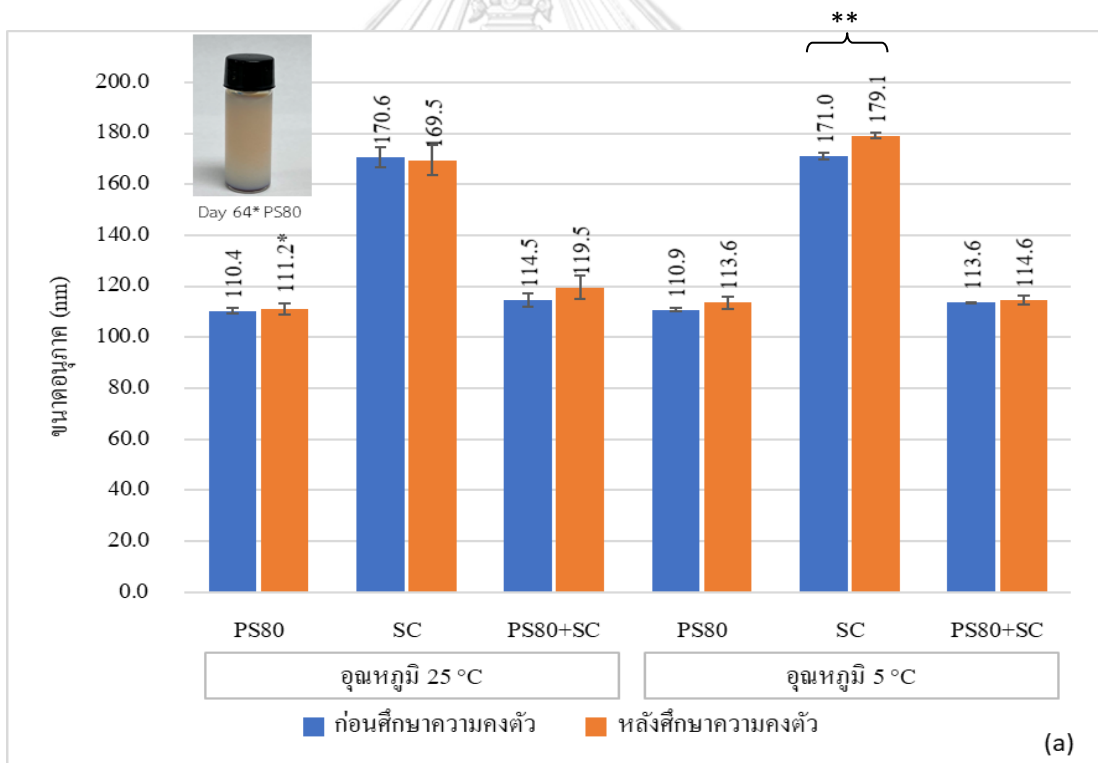
จากการวิเคราะห์หาปริมาณ astaxanthin โดยใช้ UV/VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 490 nm ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่ astaxanthin ดูดกลืนแสงได้สูงสุด พบว่า ตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชัน PS80+SC มี % Label amount สูงที่สุดคือ 91.95% ที่อุณหภูมิ 5 °C และ 87.11% ที่อุณหภูมิ 25 °C รองลงมา คือ สารทำอิมัลชัน SC และ P80 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 10 ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงผลของสารทำอิมัลชันต่อความคงตัวของ astaxanthin จากกระบวนการเตรียมด้วยเทคนิค Microfluidization พบว่า สารทำอิมัลชันผสม PS80+SC สามารถป้องกันการสลายตัวของ astaxanthin จากกระบวนการเตรียมได้มากกว่าการใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยวทั้ง 2 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งจากการศึกษาก่อนหน้านี้ ทำการเตรียมด้วยเทคนิค Microfluidization ที่ความดัน 12,000 psi จำนวน 5 รอบ โดยใช้สารทำอิมัลชัน SC 1% ในน้ำมันข้าวโพด 10% พบว่าตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin มี % labeled amount เท่ากับ 79.8% (Liu et al., 2016) และจากอีกการศึกษาทำการเตรียมด้วยเทคนิคที่ต่างกัน โดยใช้เครื่อง ultrasonic processor มี % labeled amount เท่ากับ $96.9 \pm 1.2\%$, $97.2 \pm 1.2\%$, $90.7 \pm 0.8\%$, $90.1 \pm 4.4\%$, $89.7 \pm 3.4\%$, และ $94.3 \pm 1.1\%$ โดยแตกต่างกันตามสารทำอิมัลชันที่ใช้ตามลำดับ ดังนี้ whey protein isolate (WPI), polymerized whey protein (PWP), WPI- lecithin, PWP-lecithin, lecithin, และ Tween 20 (Shen et al., 2019)

ตารางที่ 10 แสดงปริมาณ astaxanthin (%w/v) และ % Labeled amount ของนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin หลังจากเตรียมเสร็จและเก็บไว้ที่สภาวะที่ศึกษาความคงตัวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ค่าเฉลี่ย \pm SD, n = 3)

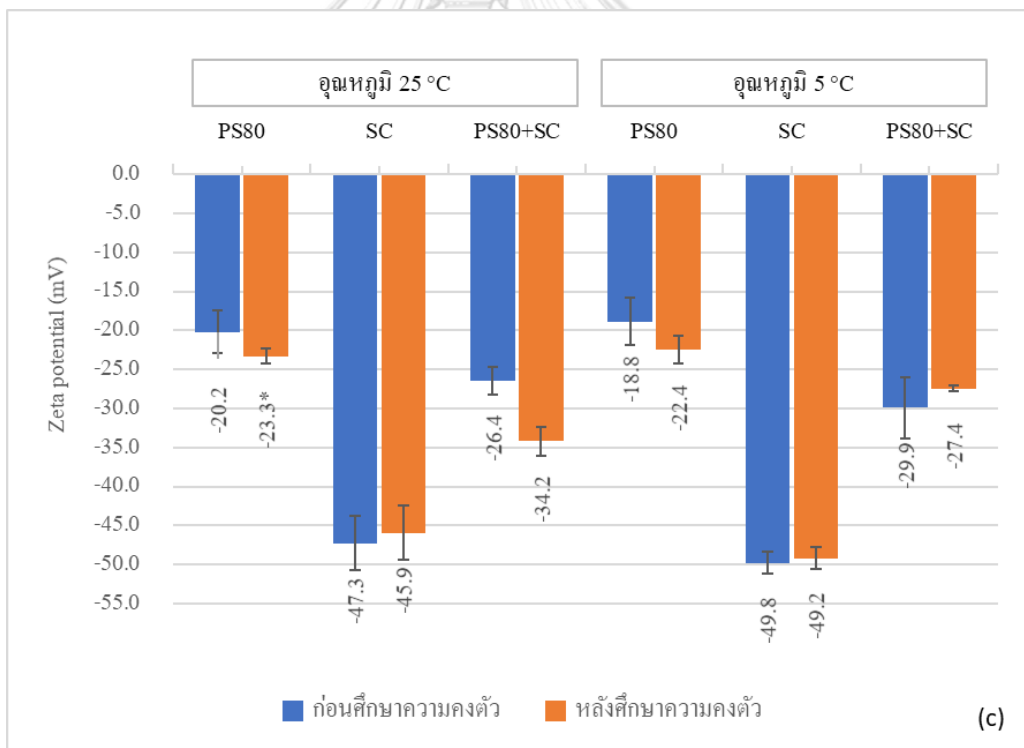
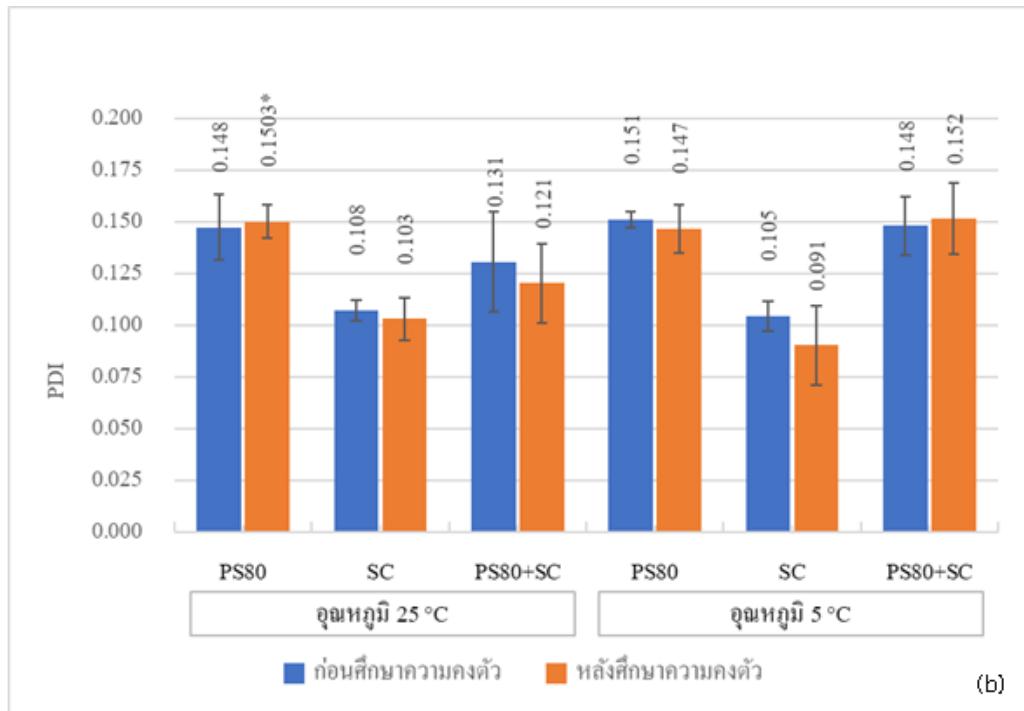
ชนิดของสารทำอิมัลชัน	อุณหภูมิที่เก็บรักษา 25° C			อุณหภูมิที่เก็บรักษา 5 °C		
	PS80	SC	PS80+SC	PS80	SC	PS80+SC
ปริมาณ astaxanthin (%w/v)	0.00228 \pm 0.0001	0.00229 \pm 0.0002	0.00243 \pm 0.0003	0.00224 \pm 0.0007	0.00229 \pm 0.00002	0.00252 \pm 0.0002
ปริมาณ astaxanthin (%w/v) ที่แท้จริง	0.00280 \pm 0.0003					
% Labeled amount	81.56 \pm 1.221	81.84 \pm 0.405	86.70 \pm 0.388	81.33 \pm 5.307	83.17 \pm 2.972	91.57 \pm 3.724

4.4.2 ความคงตัวของทางกายภาพ

จากการศึกษาความคงตัวของทางกายภาพโดยการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C และ 5 °C นาน 100 วัน พบว่า ทุกตำรับมีความคงตัวของทางกายภาพที่ตลอดการศึกษา มีกระจายตัวของอนุภาคสม่ำเสมอ (PDI <0.2), ขนาดอนุภาค, zeta potential, pH, และความหนืด ก่อนและหลังการศึกษาความคงตัวพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้น ตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว SC เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 °C พบว่า ขนาดอนุภาคลดลงเล็กน้อย แตกต่างจากวันแรกของการศึกษาความคงตัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชัน PS80 ที่อุณหภูมิ 25°C ตำรับเริ่มเกิดการแยกชั้นเป็นครีม (creaming) ในวันที่ 64 โดยปรากฏชั้นครีมขุ่นที่บสีส้มแดงอยู่ด้านบนและชั้นโปร่งแสงอยู่ด้านล่างของภาชนะบรรจุ เมื่อเขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ตำรับสามารถเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้ ไม่ปรากฏการแยกชั้น และมีขนาดอนุภาคไม่แตกต่างจากวันแรกของการศึกษาความคงตัว ดังแสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 8 แสดง (a) ขนาดอนุภาค (b) PDI และ (c) zeta potential ของนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin ที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ เปรียบเทียบก่อนและหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน (*ตำรับที่ใช้ PS80 เกิดการแยกชั้น วันที่ 64 ของการศึกษาความคงตัว, **แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$)



ภาพที่ 8 แสดง (a) ขนาดอนุภาค (b) PDI (c) zeta potential ของนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin ที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ เปรียบเทียบก่อนและหลังการเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน (*ตำรับที่ใช้ PS80 เกิดการแยกชั้น วันที่ 64 ของการศึกษาความคงตัว, **แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$) (ต่อ)

4.4.3 ความคงตัวของแอสตาแซนทิน

จากการศึกษาความคงตัวของแอสตาแซนทิน เป็นระยะเวลา 100 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสีส้มแดง ในตำรับ astaxanthin นาโนอิมัลชัน สัมพันธ์กับระยะเวลาในการเก็บรักษา, ชนิดของสารทำอิมัลชัน, และอุณหภูมิที่เก็บรักษา โดยความเข้มข้นของสีส้มแดงเปลี่ยนแปลงลดลงสัมพันธ์กับปริมาณ astaxanthin ที่เปลี่ยนแปลงลดลง โดย % astaxanthin คงเหลือ ในสารทำอิมัลชันแต่ละชนิด ทั้ง 2 อุณหภูมิ สารทำอิมัลชันแบบผสม PS80+SC มี % astaxanthin คงเหลือสูงสุด รองลงมา คือ SC และ PS80 ตามลำดับ โดยในตำรับนาโนอิมัลชันทุกตำรับ มี % astaxanthin คงเหลือน้อยกว่าในกลุ่มควบคุม คือ astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว (70.84 ± 5.404 % ที่อุณหภูมิ 5 °C และ 31.64 ± 2.701 % ที่อุณหภูมิ 25 °C)



ภาพที่ 9 แสดง % astaxanthin คงเหลือ ในตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ หลังศึกษาความคงตัวที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน

4.4.3.1 ผลของสภาวะการเก็บรักษาต่อความคงตัวของแอสตาแซนทินที่บรรจุ astaxanthin

จากการศึกษาเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อความคงตัวของแอสตาแซนทิน พบว่า astaxanthin มีความคงตัวของแอสตาแซนทินที่อุณหภูมิ 5 °C ดีกว่าที่อุณหภูมิ

25 °C แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในภาพที่ 9 ซึ่งสอดคล้องกับหลายการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่า astaxanthin มีความคงตัวทางเคมีที่ดีในอุณหภูมิต่ำ จากการศึกษาความคงตัว astaxanthin โดยใช้สารทำอิมัลชัน gypenosides และ Tween 20 ที่อุณหภูมิ 5 °C และ 25 °C นาน 30 วัน ก็เช่นกัน พบว่า astaxanthin มีความคงตัวที่อุณหภูมิ 5 °C ทั้งตำรับที่ใช้ gypenosides และ Tween 20 ดีกว่าที่อุณหภูมิ 25 °C ซึ่ง Tween 20 จัดเป็นสารทำอิมัลชันโมเลกุลขนาดเล็กเช่นเดียวกับ PS80 และ gypenosides ซึ่งเป็นสารทำอิมัลชันที่ได้จากธรรมชาติ จัดอยู่ในกลุ่ม saponin มีฤทธิ์ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและสามารถจับกับ free radical จึงส่งผลดีต่อความคงตัวทางเคมีของ astaxanthin (Chen et al., 2018)

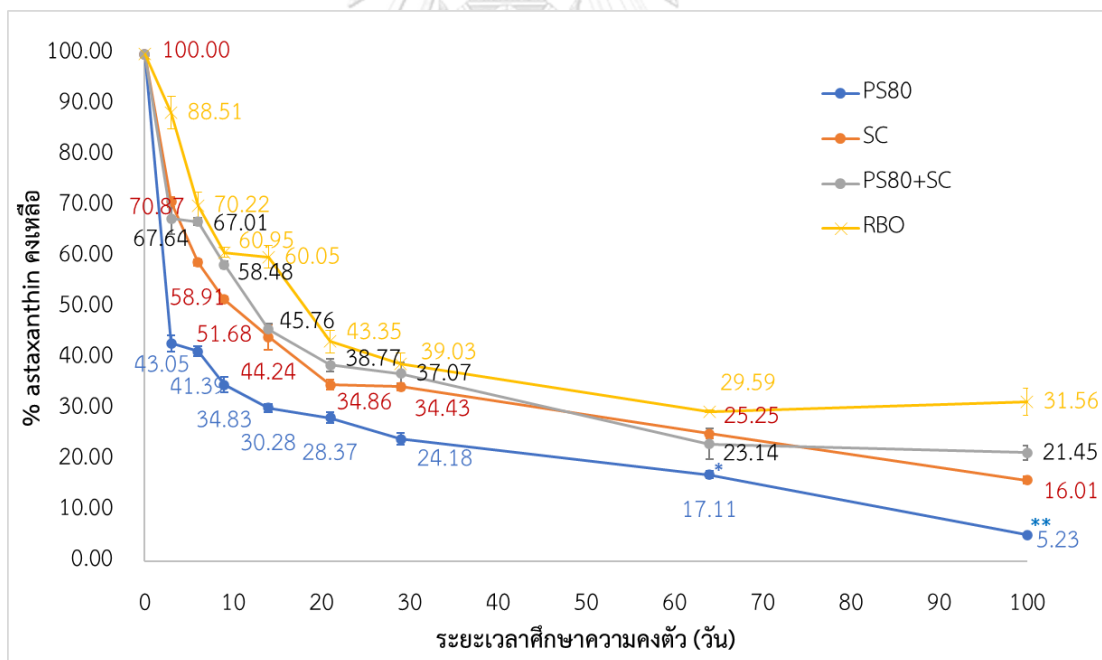
4.4.3.2 ผลของสารทำอิมัลชันต่อความคงตัวทางเคมีของตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin

- ผลของสารทำอิมัลชันที่อุณหภูมิ 25 °C

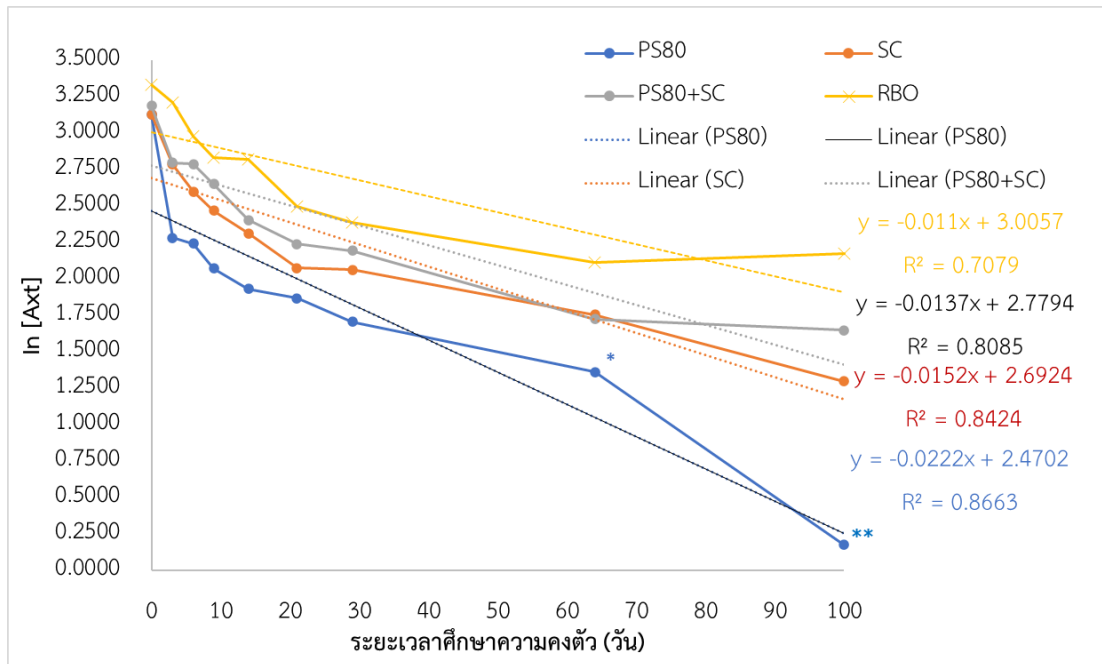
จากการศึกษาความคงตัวนาน 100 วัน พบว่า ทุกตำรับมีปริมาณ astaxanthin ลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 3 ของการศึกษาความคงตัว และ ในวันที่ 30 ตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชัน PS80 มี astaxanthin คงเหลือประมาณ 23% ซึ่งลดลงใกล้เคียงกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ใช้สารทำอิมัลชัน polysorbate 20 ซึ่งเป็นสารทำอิมัลชันที่มีโมเลกุลขนาดเล็กจัดอยู่ในกลุ่ม nonionic surfactant ในกลุ่มเดียวกันกับ PS80 (Chen et al., 2018) และในวันที่ 64 และ 100 ตำรับเกิดการแยกชั้นเป็นครีม โดยชั้นครีมขุ่นที่บสีส้มแดงอยู่ด้านบนและชั้นโปร่งแสงอยู่ด้านล่างของภาชนะบรรจุ แต่เขย่าแล้วสามารถกลับกระจายตัวได้ โดยเมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณ astaxanthin คงเหลือ พบว่า มีการลดลงอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากตำรับเริ่มมีการสูญเสียความคงตัวทางกายภาพจึงไม่สามารถห่อหุ้มโมเลกุลน้ำมันไว้ภายในได้อย่างสมบูรณ์ ส่งผลให้ astaxanthin สัมผัสกับปัจจัยภายนอกจึงเกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็ว สำหรับ % astaxanthin คงเหลือ ในตำรับที่เตรียมด้วยสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 25 °C เรียงลำดับจากมากไปน้อย คือ PS80+SC ($21.41 \pm 1.45\%$), SC ($15.98 \pm 0.71\%$), และ PS80 ($5.23 \pm 0.17\%$) โดย ดังแสดงจากภาพที่ 10

จากข้อมูลการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่ศึกษาถึงผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวทางเคมีของ astaxanthin ในระบบนาโนอิมัลชัน พบว่า astaxanthin มีปฏิกิริยาการสลายตัวอันดับหนึ่ง โดยอัตราเร็วการเปลี่ยนแปลงของสีสัมพันธ์กับอัตราการสลายตัวของ astaxanthin (Liu et al., 2016)

จึงทำการหาค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวอันดับหนึ่งซึ่งได้จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมฐานธรรมชาติ (ln) ของความเข้มข้น astaxanthin ($\mu\text{g/ml}$) กับระยะเวลาที่ศึกษาความคงตัว (วัน) ผลแสดงดังภาพที่ 11 เป็นกราฟการสลายตัวของ astaxanthin ที่อุณหภูมิ 25 °C โดยค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวได้จากค่าความชันของกราฟ โดยตำรับที่มีสารทำอิมัลชัน PS80 ($k_1 = 0.0222 \text{ d}^{-1}$, $R^2 = 0.8663$) มีค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวสูงที่สุด รองลงมา คือ ตำรับที่มี SC ($k_1 = 0.0152 \text{ d}^{-1}$, $R^2 = 0.8424$) และ PS80+SC ($k_1 = 0.0137 \text{ d}^{-1}$, $R^2 = 0.8085$) ตามลำดับ โดยตำรับ astaxanthin นาโนอิมัลชันทุกตำรับมีค่า k_1 สูงกว่า สารละลาย astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว ($k_1 = 0.0110$, $R^2 = 0.7079$) อย่างไรก็ตาม กราฟที่พลอตระหว่างค่า ln (ความเข้มข้น) กับระยะเวลา ไม่เป็นเส้นตรง โดยทุกตำรับมีค่า R^2 น้อยกว่าการศึกษาก่อนหน้านี้ที่มีค่า $R^2 = 0.923$ (Liu et al., 2016) ซึ่งอาจเนื่องจากตำรับ astaxanthin นาโนอิมัลชัน มิได้มีเพียง astaxanthin แต่ยังมีองค์ประกอบอื่นๆ ซึ่งทำให้ตำรับไม่มีความเป็นเนื้อเดียวกันและส่วนประกอบในตำรับไม่เหมือนกับการศึกษาก่อนหน้านี้



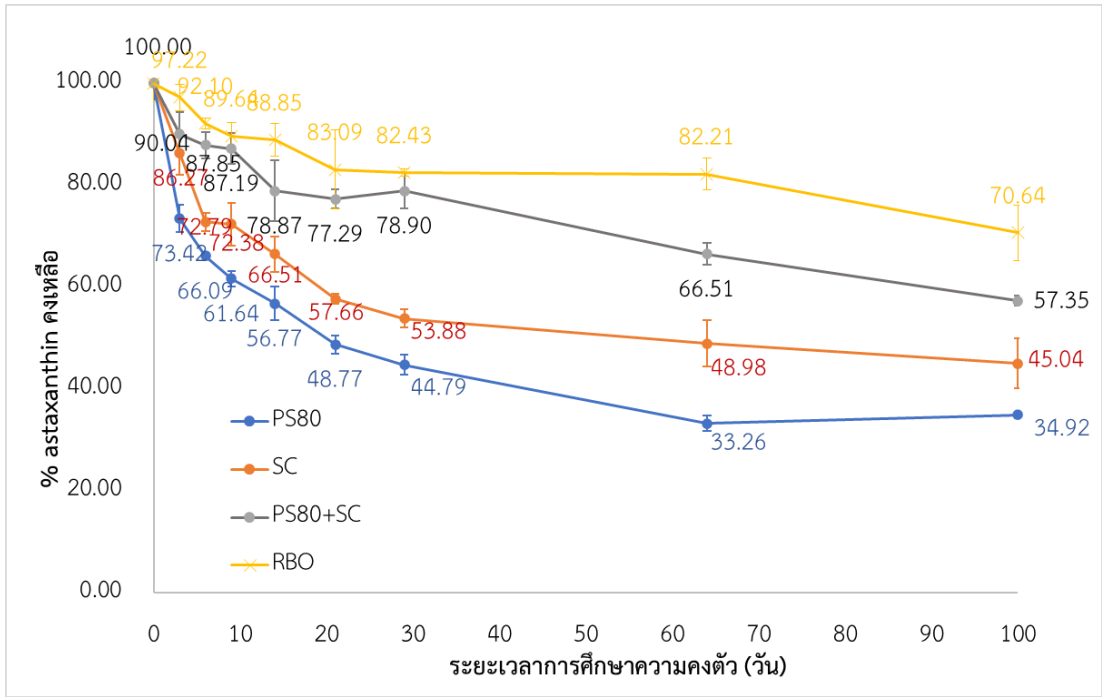
ภาพที่ 10 แสดง % astaxanthin คงเหลือในตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน (*ตำรับ 4% PS80 เกิดการแยกชั้นวันที่ 64 ของการศึกษาความคงตัว **ค่าการดูดกลืนแสงอยู่นอกช่วงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง)



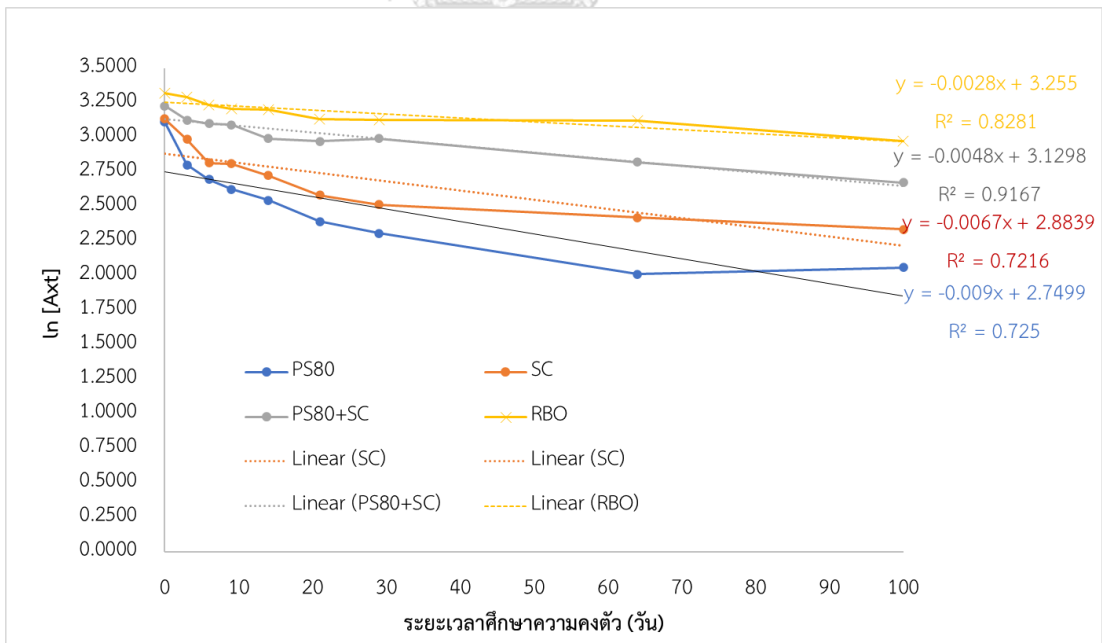
ภาพที่ 11 แสดงค่าคงที่อัตราการสลายตัวของ astaxanthin ในตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน (*ตำรับ 4% PS80 เกิดการแยกชั้น วันที่ 64 ของการศึกษาความคงตัว **ค่าการดูดกลืนแสงอยู่นอกช่วงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง)

● ผลของสารทำอิมัลชันที่อุณหภูมิ 5 °C

สำหรับการศึกษาผลของสารทำอิมัลชันต่อความคงตัวของตำรับเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 5°C ให้ผลสอดคล้องกับที่อุณหภูมิ 25°C โดยมี % astaxanthin ที่เหลืออยู่เรียงตามลำดับจากมากไปน้อย คือ PS80+SC ($57.22 \pm 0.96\%$), SC ($44.67 \pm 4.97\%$), และ PS80 ($34.47 \pm 0.68\%$) โดยที่อุณหภูมิ 5 °C มีค่าคงที่อัตราการสลายตัวของ astaxanthin ช้ากว่าที่อุณหภูมิ 25 °C ดังแสดงในภาพที่ 12 และจากค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวซึ่งคำนวณได้จากความชันของกราฟความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมฐานธรรมชาติ (ln) ของความเข้มข้น astaxanthin ($\mu\text{g/ml}$) กับระยะเวลาที่ศึกษาความคงตัว (วัน) (ภาพที่ 13) พบว่า ตำรับที่มี PS80 ($k_1 = 0.0090 \text{ d}^{-1}$, $R^2 = 0.7250$) มีค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวสูงที่สุด รองลงมา คือ ตำรับที่มี SC ($k_1 = 0.0067 \text{ d}^{-1}$, $R^2 = 0.7216$) และ PS80+SC ($k_1 = 0.0048 \text{ d}^{-1}$, $R^2 = 0.9167$) ตามลำดับ โดยตำรับ astaxanthin นาโนอิมัลชันทุกตำรับมีค่า k_1 สูงกว่าสารละลาย astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว ($k_1 = 0.0028$, $R^2 = 0.8281$) เช่นเดียวกับที่อุณหภูมิ 25°C



ภาพที่ 12 แสดง % astaxanthin คงเหลือในตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน



ภาพที่ 13 แสดงอัตราการสลายตัวของ astaxanthin ในตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันชนิดต่างๆ หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 วัน

จากข้อมูลผลการศึกษาความคงตัว ที่อุณหภูมิ 5 °C และ 25 °C จะเห็นได้ว่าตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว PS80 มีความคงตัวน้อยสุด ตามด้วย SC และ PS80+SC ตามลำดับ สำหรับการใส่สารทำอิมัลชันเดี่ยว PS80 จัดเป็นสารทำอิมัลชันที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก ที่ช่วยให้ระบบคงตัวได้ด้วยกลไก Gibbs-Marangoni ซึ่งไม่เกิดการยึดเกาะที่รุนแรงระหว่างวฏภาคน้ำหรือวฏภาคน้ำมันที่ผิวประจัน (Mao et al., 2009) จึงทำให้ตัวกระตุ้นกระบวนการออกซิเดชันเข้าสู่สัมผัสกับอนุภาคภายในได้ง่าย ส่งผลให้ astaxanthin เกิดการสลายตัวได้เร็วกว่าสารทำอิมัลชันชนิดอื่นๆ สำหรับสารทำอิมัลชันเดี่ยว SC พบว่า astaxanthin มีความคงตัวทางเคมีรองลงมา เนื่องจากโครงสร้างของ SC ประกอบด้วย phosphoprotein 4 ชนิด คือ α_{s1} -casein, α_{s2} -casein, β -casein, และ κ -casein ซึ่งเป็น peptide segment ซึ่งมีคุณสมบัติ antioxidant (Liu et al., 2016) และด้วยโครงสร้างโมเลกุลขนาดใหญ่จึงเกิด steric hindrance ป้องกันอนุมูลอิสระเข้าสู่สัมผัสกับวฏภาคภายใน จึงส่งผลดีต่อความคงตัวทางเคมีของ astaxanthin และการใช้สารทำอิมัลชันแบบผสม PS80+SC ส่งผลดีต่อความคงตัวทางเคมีของ astaxanthin ดีที่สุด ทั้งนี้เนื่องมาจากการใช้สารทำอิมัลชันผสมทำให้มีการจัดเรียงตัวที่ผิวประจันแน่นขึ้น เปรียบเสมือนชั้นฟิล์มที่ช่วยป้องกันตัวกระตุ้นกระบวนการออกซิเดชันกระจายเข้าสู่อนุภาคภายในได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาผลของสารทำอิมัลชันโมเลกุลขนาดเล็กและโมเลกุลขนาดใหญ่ต่อความคงตัวของตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุสารสำคัญ beta-carotene ที่เตรียมด้วยวิธี high pressure homogenization โดยการพิจารณาเปรียบเทียบการใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว Tween 20 และ Whey protein isolated (WPI) และการใช้สารทำอิมัลชันผสม Tween 20 : WPI ที่อัตราส่วน 4:1, 1:1 และ 1:4 พบว่าสารทำอิมัลชันผสมที่อัตราส่วน 1:1 มีความคงตัวดีที่สุด 63.35% รองลงมาคือ 4:1 (57.22%) และ 1:4 (55.54%) ซึ่งทั้ง 2 อัตราส่วนมีความคงตัวดีเท่ากับการใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว โดยผู้วิจัยได้อธิบายว่าการใช้สารทำอิมัลชันแบบผสมจะทำให้คุณสมบัติการจัดเรียงของสารทำอิมัลชันที่ผิวประจันเปลี่ยนแปลงไป โดยสารทำอิมัลชันโปรตีนจะถูกแทนที่ด้วยสารทำอิมัลชันโมเลกุลขนาดเล็ก และสารทำอิมัลชันในกลุ่มโปรตีนที่หลุดออกจากผิวประจัน จะเกิดการฟอร์มตัวเป็น multilayer ถัดจากชั้นผิวประจันแทน จึงส่งผลดีต่อความคงตัวทางเคมีของสารสำคัญ beta-carotene (Mao et al., 2009)

อย่างไรก็ตาม มีบางการศึกษาให้ผลที่ขัดแย้งกัน โดยได้อธิบายถึงการใช้สารทำอิมัลชันผสมส่งผลให้หยดวฏภาคภายในมีขนาดเล็กลง จึงเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสกับปัจจัยแวดล้อมได้มากขึ้น ทำให้สารสำคัญสลายตัวจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เร็วขึ้น (NGUYEN et al., 2013) โดยเมื่อเปรียบเทียบขนาดอนุภาคที่อุณหภูมิ 5 °C ของสารทำอิมัลชันผสม PS80+SC (114.6 ± 1.84 nm) และสารทำอิมัลชันเดี่ยว PS80 (113.6 ± 2.31 nm) พบว่า มีขนาดอนุภาคใกล้เคียงกันแต่ให้ความคงตัวทางเคมี

แตกต่างกัน และสารทำอิมัลชัน SC มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่า PS80+SC กลับให้ความคงตัวของตัวทางเคมีที่น้อยกว่า PS80+SC ซึ่งไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดอนุภาคต่อความคงตัวของตัวทางเคมี และจากการศึกษาความคงตัวของ astaxanthin โดยใช้สารทำอิมัลชัน whey protein isolate (WPI), polymerized whey protein (PWP), WPI-lecithin, PWP-lecithin, lecithin และ Tween 20 โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 14 วัน ก็ให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน โดยพบว่าการใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว PWP และ WPI ให้ความคงตัวที่ดีกว่าการใช้สารทำอิมัลชันแบบผสม PWP-lecithin และ WPI-lecithin (Shen et al., 2019) ซึ่งผู้วิจัยไม่ได้ให้เหตุผลถึงความแตกต่างระหว่างการใช้สารทำอิมัลชันแบบผสมและแบบเดี่ยวต่อความคงตัวของตัวทางเคมีที่ดี จากการพิจารณาถึงผลของขนาดอนุภาคต่อความคงตัวของตัวทางเคมี พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันเนื่องจากการใช้ Tween 20 เดี่ยวมีขนาดอนุภาคเล็กที่สุดกลับให้ความคงตัวดีเป็นอันดับที่ 3 รองจาก PWP และ WPI ในขณะที่ lecithin ที่มีขนาดอนุภาคใหญ่สุดกลับให้ความคงตัวของตัวทางเคมีที่ไม่ดี จึงชี้ให้เห็นว่า การเลือกสารทำอิมัลชันที่เหมาะสมที่สามารถสร้างชั้นฟิล์มที่แข็งแรง เพื่อป้องกันตัวกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเข้าสู่วิถีภายในได้ ย่อมส่งผลดีต่อความคงตัวของตัวทางเคมีของสารสำคัญมากกว่าผลจากขนาดของหยดวิถีภายในในระบบนาโนอิมัลชัน และเมื่อเปรียบเทียบตำรับนาโนอิมัลชันกับสารละลาย astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว พบว่า สารละลาย astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว มีความคงตัวของตัวทางเคมีที่ดีกว่า เนื่องจากในสารละลายน้ำมัน astaxanthin มีพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับปัจจัยภายนอกน้อยกว่าตำรับนาโนอิมัลชันซึ่ง astaxanthin อยู่ในหยดวิถีภายในที่มีพื้นที่ผิวสัมผัสกับวิถีภายนอกซึ่งเป็นวิถีน้ำที่อาจเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาให้เกิดการสลายตัวได้มากขึ้น อย่างไรก็ตาม ระบบนาโนอิมัลชันชนิดน้ำมันกระจายในน้ำยังคงมีข้อดีในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับรับประทานและด้วยขนาดอนุภาคที่เล็กระดับนาโนจะช่วยเพิ่มชีวปริมาณออกฤทธิ์ของสารสำคัญในระบบได้มากขึ้นเมื่อเทียบกับรูปแบบสารละลายในน้ำมัน

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการเตรียมตำรับนาโนอิมัลชันด้วยเครื่อง Microfluidizer™ โดยมีน้ำมันรำข้าว เป็นวัฏภาคน้ำมัน และศึกษาผลของสารทำอิมัลชันเดี่ยว sodium caseinate และ polysorbate 80 และสารทำอิมัลชันผสมทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อคุณสมบัติและความคงตัวของนาโนอิมัลชันเปล่าและนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin ให้ผลการศึกษารูปได้ดังนี้

1. ตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันเดี่ยว sodium caseinate ให้ขนาดอนุภาคใหญ่กว่า ตำรับนาโนอิมัลชันเดี่ยว polysorbate 80 โดยความเข้มข้นของสารทำอิมัลชัน sodium caseinate ไม่มีผลต่อขนาดอนุภาค แต่ความเข้มข้น polysorbate 80 ที่เพิ่มขึ้น มีผลทำให้ขนาดอนุภาคลดลง อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) สำหรับตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันแบบผสม การเพิ่มสารทำอิมัลชันชนิดที่สอง ส่งผลให้ขนาดอนุภาคเล็กลงและมีค่า zeta potential อยู่ระหว่างการใส่สารทำอิมัลชันเดี่ยว 2 ชนิด

2. ผลการศึกษาความคงตัวทางกายภาพของนาโนอิมัลชันเปล่าภายใต้สภาวะ heating-cooling จำนวน 6 รอบ พบว่า ตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันเดี่ยวทั้ง 2 ชนิด ทุกตำรับมีความคงตัวทางกายภาพที่ติดต่อกับการศึกษาคงตัว สำหรับตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันแบบผสม มีเพียงตำรับที่ใช้ 1% sodium caseinate ร่วมกับ 4, 6, และ 8% polysorbate 80 เท่านั้น ที่มีความคงตัวทางกายภาพที่ดี จึงทำการเตรียมตำรับนาโนอิมัลชันเพื่อนำส่งสารสำคัญ astaxanthin โดยเลือกใส่สารทำอิมัลชันที่ความเข้มข้นน้อยที่สุดและให้ความคงตัวทางกายภาพที่ดี จึงเลือกใส่สารทำอิมัลชันเดี่ยว 1% sodium caseinate, 4% polysorbate 80, และสารทำอิมัลชันผสมทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นเดียวกัน

3. ตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin มีคุณสมบัติทางกายภาพไม่แตกต่างจากตำรับนาโนอิมัลชันเปล่า และผลการศึกษาความคงตัวทางกายภาพและทางเคมี ที่อุณหภูมิ 5 °C และ 25 °C เป็นเวลา 100 วัน พบว่า วันที่ 64 ตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin ที่ใส่สารทำอิมัลชันเดี่ยว polysorbate 80 เกิดการแยกชั้นเป็นครีม เมื่อเขย่าตำรับสามารถกระจายกลับคืนได้ โดยเปรียบเทียบขนาดอนุภาคก่อนและหลังไม่มีการเปลี่ยนแปลงและมีการกระจายขนาดแคบ ($PDI <$

0.2) ตลอดการศึกษาความคงตัว สำหรับตำรับนาโนอิมัลชันที่มีสารทำอิมัลชันเดี่ยว sodium caseinate และสารทำอิมัลชันผสม มีความคงตัวทางกายภาพที่ดีตลอดการศึกษาความคงตัว โดยพบว่า ที่อุณหภูมิ 5 °C ตำรับนาโนอิมัลชันมีความคงตัวทางเคมีดีกว่าที่อุณหภูมิ 25 °C และตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันผสมมีความคงตัวทางเคมีดีกว่าตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว sodium caseinate และ polysorbate 80 ตามลำดับ การใช้สารทำอิมัลชันแบบผสมส่งผลให้เกิดชั้นฟิล์มที่แข็งแรงช่วยป้องกันตัวกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ และส่งผลให้อัตราการสลายตัวของ astaxanthin ช้าลงเมื่อเทียบกับการใช้สารทำอิมัลชันชนิดเดียว

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

1. ศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างสารทำอิมัลชันแต่ละชนิดต่อคุณสมบัติและความคงตัวของนาโนอิมัลชันทั้งแบบเปล่าและที่บรรจุสารสำคัญ
2. ศึกษาผลของการใช้ตัวทำละลายร่วมเพื่อเพิ่มปริมาณการละลายของสาร astaxanthin ในระบบนาโนอิมัลชันให้มากยิ่งขึ้น
3. ศึกษาผลของสารทำอิมัลชันที่มีโครงสร้างขนาดใหญ่ชนิดอื่นเพื่อช่วยเพิ่มความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของระบบนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin ให้มากยิ่งขึ้น
4. ศึกษาการเตรียมระบบนาโนอิมัลชันแบบก่อดตัวเอง (self-nanoemulsifying system) ในรูปผงแห้ง เพื่อเพิ่มความคงตัวทางเคมีให้กับสาร astaxanthin ในระบบมากยิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

- AFFANDI, M. M. M., JULIANTO, T. & MAJEED, A. 2011. Development and stability evaluation of Astaxanthin nanoemulsion. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 4, 142-148.
- AFFANDI, M. M. M., JULIANTO, T. & MAJEED, A. 2012. Enhanced Oral Bioavailability of Astaxanthin with Droplet Size Reduction. *Food Science and Technology Research*, 18, 549-554.
- ALMEIDARIGO, L., RAFFINPOHLMANN, A., STANISÇUASKIGUTERRES, S. & RUIVERBECK, R. 2014. *Rice Bran Oil: Benefits to Health and Applications in Pharmaceutical Formulations*, Wheat and Rice in Disease Prevention and Health.
- AMBATI, R. R., PHANG, S. M., RAVI, S. & ASWATHANARAYANA, R. G. 2014. Astaxanthin: Sources, Extraction, Stability, Biological Activities and Its Commercial Applications—A Review. *Marine Drug*, 12, 128-152.
- ANARJAN, N., NEHDI, I. A. & TAN, C. P. 2013. Protection of astaxanthin in astaxanthin nanodispersions using additional antioxidants. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 18, 7699-7710.
- ARIYAPRAKAI, S. 2017. Nanoemulsion Production by Simple and Low Energy Method. *Food and Applied Bioscience Journal*, 5, 155-164.
- BOON, C. S., MCCLEMENTS, D. J., WEISS, J. & DECKER, E. A. 2010. Factors Influencing the Chemical Stability of Carotenoids in Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50, 515-532.
- CHEN, Z., SHU, G., TAARJI, N., BARROW, C. J., NAKAJIMA, M., KHALID, N. & NEVES, M. A. 2018. Gypenosides as natural emulsifiers for oil-in-water nanoemulsions loaded with astaxanthin: Insights of formulation, stability and release properties. *Food Chemistry*, 261, 322-328.
- CIAPARA, I. H., VALENZUELA, L. F. & GOYCOOLEA, F. M. 2006. Astaxanthin: A Review of its Chemistry and Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 185-196.
- DONOSO, A., GONZÁLEZ-DURÁN, J., MUÑOZ, A. A., GONZÁLEZ, P. A. & AGURTO-MUÑOZ,

- C. 2021. Therapeutic uses of natural astaxanthin: An evidence-based review focused on human clinical trials. *Pharmacological Research*, 166.
- DU, Y., YIN, L. J., HAN, Q. H., ZHAO, D. & LIU, H. J. 2018. Effect of NaCas/Tween 80 ratios and environmental stresses on the physical stability of perilla oil-in-water emulsions. *Journal of Food Processing & Preservation*, 42, 1-1.
- EIJI, Y. 2013. Astaxanthin as a Medical Food. *Functional Foods in Health and Disease*, 3, 254-258.
- EMA. 2003. *Note for guidance on excipients, antioxidant and antimicrobial preservatives in the dossier for application for marketing authorisation of a medical product* [Online]. Available: <https://www.ema.europa.eu> [Accessed 20 February 2003].
- FAKHRI, S., ABBASZADEH, F., DARGAHI, L. & JORJANI, M. 2018. Astaxanthin: A mechanistic review on its biological activities and health benefits. *Pharmacological Research*, 136, 1-20.
- GHARBY, S., HARHAR, H., BOUZOUBAA, Z., ASDADI, A., YADINI, A. E. & CHARROUF, Z. 2017. Chemical characterization and oxidative stability of seeds and oil of sesame grown in Morocco.
- GOPALAKRISHNA, A. G., HEMAKUMAR, K. H. & KHATOON, S. 2006. Study on the Composition of Rice Bran Oil and Its Higher Free Fatty Acids Value. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83, 117-120.
- GURPREET, K. & SINGH, S. K. 2018. Review of nanoemulsion formulation and characterization techniques. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80, 781-789.
- HIGUERA-CIAPARA, I., FÉLIX-VALENZUELA, L. & GOYCOOLEA, F. M. 2006. Astaxanthin: A Review of its Chemistry and Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 185-196.
- KHALID, N., SHU, G., HOLLAND, B. J., KOBAYASHI, I., NAKAJIMA, M. & BARRO, C. J. 2017. Formulation and characterization of O/W nanoemulsions encapsulating high concentration of astaxanthin. *Food Research International*, 102, 364-371.
- LIANG, Y., GAO, Y., LIN, Q., LUO, F., WU, W., LU, Q. & LIU, Y. 2014. review of the research

progress on the bioactive ingredients and physiological activities of rice bran oil. *European food research and technology*.

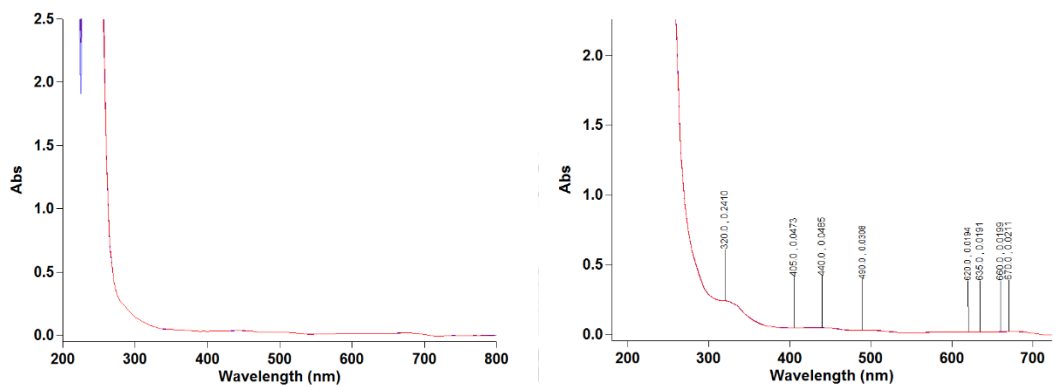
- LIM, K. C., YUSOFF, F. M., SHARIFF, M. & KAMARUDIN, M. S. 2018. Astaxanthin as feed supplement in aquatic animals. *Reviews in Aquaculture*, 738.
- LIU, Q., HUANG, H., CHEN, H., LIN, J. & WANG, Q. 2019. Food-Grade Nanoemulsions: Preparation, Stability and Application in Encapsulation of Bioactive Compounds. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24.
- LIU, X., MCCLEMENTS, D. J., CAO, Y. & XIAO, H. 2016. Chemical and Physical Stability of Astaxanthin-Enriched Emulsion-Based Delivery Systems. *Food Biophysics*, 11, 302-310.
- MAO, L., XU, D., YANG, J., YUAN, F. & GAO, Y. 2009. Effects of Small and Large Molecule Emulsifiers on the Characteristics of β -Carotene Nanoemulsions Prepared by High Pressure Homogenization. *Food Technology and Biotechnology*, 47, 336-342.
- MARTINEZ-DELGADO, A. A., KHANDUAL, S. & VILLANUEVA-RODRIGUEZ, S. J. 2017. Chemical stability of astaxanthin integrated into a food matrix: Effects of food processing and methods for preservation. *Food Chemistry*, 225, 23-30.
- MONTOYA, C., COCHARD, B., FLORI, A., CROS, D., LOPES, R., CUELLAR, T., ESPEOUT, S., SYAPUTRA, I., VILLENEUVE, P., PINA, M., RITTER, E., LEROY, T. & BILLOTTE, N. 2014. Genetic architecture of palm oil fatty acid composition in cultivated oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) compared to its wild relative *E. oleifera* (H.B.K) Cortés. *PloS one*, 9, e95412.
- NGUYEN, H. H., CHOI, K.-O., KIM, D. E., KANG, W.-S. & KO, S. 2013. Improvement of oxidative stability of rice bran oil emulsion by controlling droplet size. *Journal of Food Processing & Preservation*, 37, 139-151.
- NIDHI, B. & BASKARAN, V. 2011. Influence of Vegetable Oils on Micellization of Lutein in a Simulated Digestion Model. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88, 367-372.
- ODEBERG, J. M., LIGNELL, Å., PETTERSSON, A. & HÖGLUND, P. 2003. Oral bioavailability of the antioxidant astaxanthin in humans is enhanced by incorporation of lipid based formulations. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19, 299-304.

- PERUGINI, L., CINELLI, G., COFELICE, M., CEGLIE, A., LOPEZ, F. & CUOMO, F. 2018. Effect of the coexistence of sodium caseinate and Tween 20 as stabilizers of food emulsions at acidic pH. *Colloids And Surfaces. B, Biointerfaces*, 168, 163-168.
- RAO, A. R., SARADA, R. & RAVISHANKAR, G. A. 2007. Stabilization of astaxanthin in edible oils and its use as an antioxidant. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 957-965.
- SANTIPONGSAK, P. & CHARNVANICH, D. 2019. Influence of process parameters and required HLB on physical properties of rice bran oil nanoemulsions using microfluidization technique. *International Annual Meeting in Pharmaceutical Sciences & CU-MPU International Collaborative Research Conference*, 35, 119-123.
- SERGIO, D., MICHAEL, E. N. & GIOVANNI, S. 2018. Astaxanthin in Skin Health, Repair, and Disease: A Comprehensive Review.
- SHEN, X., FANG, T., ZHENG, J. & GUO, M. 2019. Physicochemical Properties and Cellular Uptake of Astaxanthin-Loaded Emulsions. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24.
- TADROS, T. F. 2018. *Basic Principles of Interface Science and Colloid Stability*, [N.p.], De Gruyter.
- XUE, J. & ZHONG, Q. 2014. Thyme oil nanoemulsions coemulsified by sodium caseinate and lecithin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 9900-9907.
- YANG, Y., KIM, B. & LEE, J. Y. 2013. Astaxanthin structure, metabolism, and health benefits. *J. Hum. Nutr. Food Sci*, 1, 1-1003.
- YERRAMILI, M. & GHOSH, S. 2017. Long-term stability of sodium caseinate-stabilized nanoemulsions. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 82-92.
- ZULUAGA, M., GUEGUEN, V., LETOURNEUR, D. & PAVON-DJAVID, G. 2018. Astaxanthin-antioxidant impact on excessive Reactive Oxygen Species generation induced by ischemia and reperfusion injury. *Chemico-Biological Interactions*, 279, 145-158.

ภาคผนวก ก

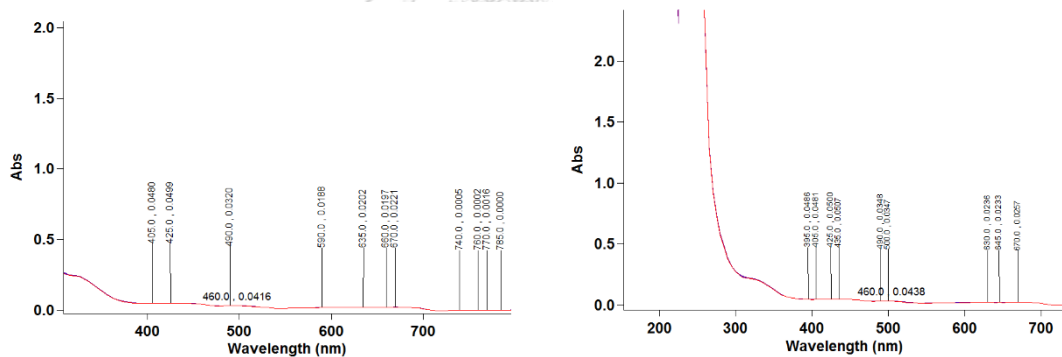
การวิเคราะห์ astaxanthin ด้วยวิธี UV/VIS spectrophotometry

1. ความเฉพาเจาะจงในการวิเคราะห์หาปริมาณ astaxanthin โดยใช้เครื่อง UV/VIS spectrophotometer



(a)

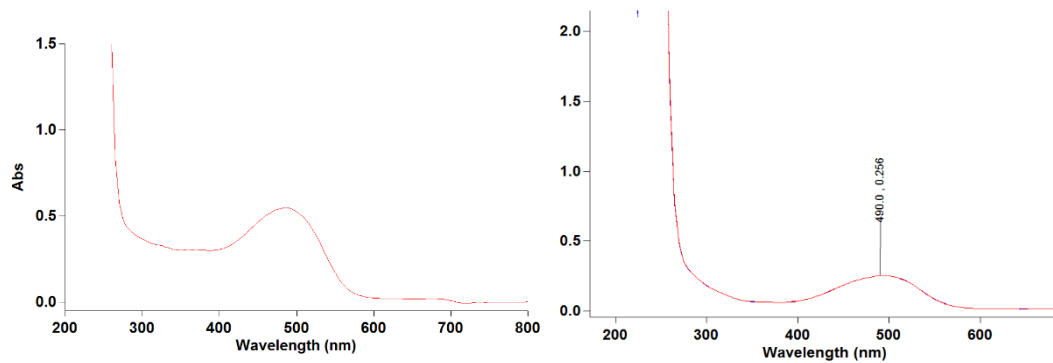
(b)



(c)

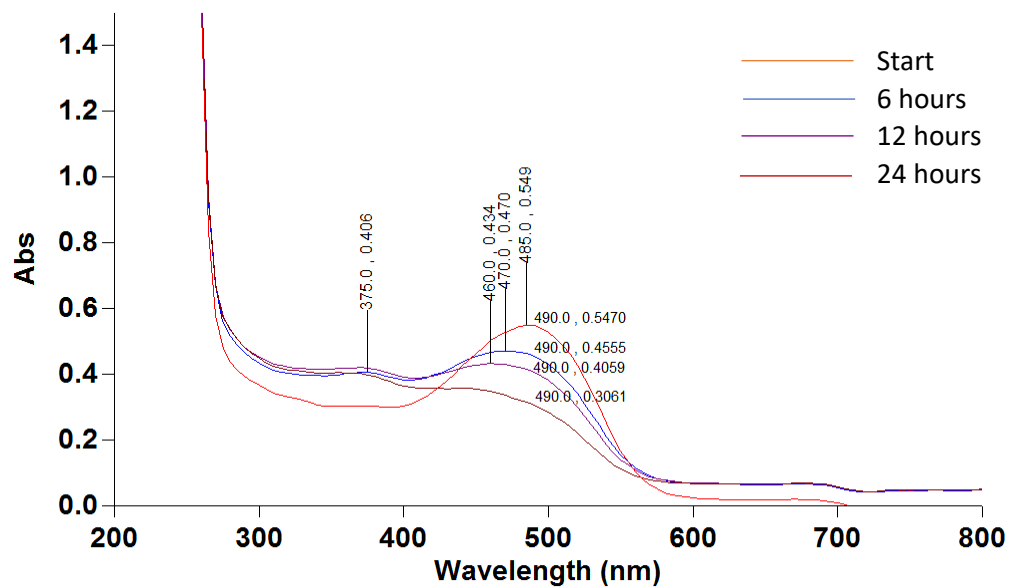
(d)

ภาพที่ ก-1 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200-800 nm (a) ตัวทำละลาย DMSO, (b) ตำรับนาโนอิมัลชันเปล่าที่ใช้ 4% PS80, (c) ตำรับนาโนอิมัลชันเปล่าที่ใช้ 1% SC, (d) ตำรับนาโนอิมัลชันเปล่าที่ใช้ 4% PS80 และ 1% SC, (e) สารละลาย astaxanthin ใน DMSO, (f) ตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin, (g) ตัวอย่างที่ได้จากการทำให้ astaxanthin สลายตัวด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 24 ชั่วโมง



(e)

(f)



(g)

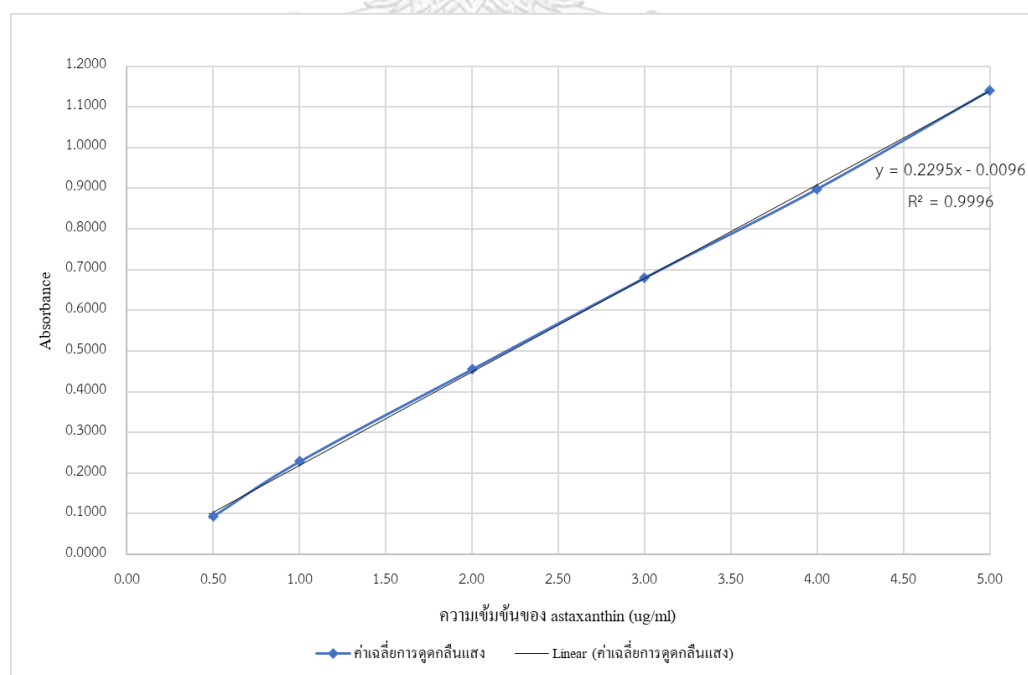
ภาพที่ ก-1 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200-800 nm (a) ตัวทำละลาย DMSO, (b) ตำรับนาโนอิมัลชันเปล่าที่ใช้ 4% PS80, (c) ตำรับนาโนอิมัลชันเปล่าที่ใช้ 1% SC, (d) ตำรับนาโนอิมัลชันเปล่าที่ใช้ 4% PS80 และ 1% SC, (e) สารละลาย astaxanthin ใน DMSO, (f) ตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin, (g) ตัวอย่างที่ได้จากการทำให้ astaxanthin สลายตัวด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 24 ชั่วโมง (ต่อ)

2. กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง

ทำการวิเคราะห์หาค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย astaxanthin ใน DMSO ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน 6 ความเข้มข้น ในช่วง 0.50-5.00 $\mu\text{g/ml}$ จากนั้นนำไปสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) เพื่อหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง มีค่าสมการถดถอยเท่ากับ $y = 0.2295x - 0.0096$ และค่า coefficient of determination (r^2) เท่ากับ 0.9996

ตารางที่ ก-1 แสดงความเข้มข้น astaxanthin ($\mu\text{g/ml}$) ในตัวทำละลาย DMSO ที่ใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของ astaxanthin

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	0.50	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00
Abs	0.0905	0.2280	0.4540	0.6802	0.8993	1.1409
	0.0926	0.2291	0.4564	0.6795	0.9005	1.1394
	0.0999	0.2295	0.4561	0.6819	0.8964	1.1431
Mean	0.0943	0.2289	0.4555	0.6805	0.8987	1.1411
SD	0.0049	0.0008	0.0013	0.0012	0.0021	0.0019



ภาพที่ ก-2 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลาย astaxanthin ใน DMSO

ภาคผนวก ข
ข้อมูลการประเมินความคงตัวของทางภาพและทางเคมีของตำรับนาโนอิมัลชัน

ตารางที่ ข-1 แสดงขนาดอนุภาค (nm) ของตำรับนาโนอิมัลชันแบบแปล่งที่ศึกษาความคงตัวของทางกายภาพภายใต้สภาวะ heating-cooling นาน 6 รอบ

Formulation code	P4	P6	P8	S1	S3	S5	P4S1	P4S3	P4S5	P6S1	P6S3	P6S5	P8S1	P8S3	P8S5
	102.5	96.09	92.49	166.6	165.3	166.8	101.6	95.43	81.89	95.61	85.20	73.74	85.91	70.69	66.17
	104.1	95.67	90.11	160.3	162.4	163.5	101.4	94.30	82.47	93.42	82.17	73.06	84.74	71.77	65.71
	106.1	96.01	89.53	159.9	162.8	164.9	100.3	94.16	82.57	93.35	81.86	73.03	84.05	73.03	64.70
	108.0	97.55	90.88	164.6	167.7	162.8	101.5	94.33	83.76	93.87	83.48	74.04	84.75	75.95	66.72
Day 0	106.9	95.67	90.90	166.0	163.8	161.4	100.4	94.54	83.34	92.50	81.02	73.45	84.01	75.18	64.97
	106.5	95.70	89.40	164.0	164.5	161.6	100.1	92.79	83.92	92.42	81.48	72.28	82.71	74.53	65.51
	107.7	96.83	89.95	164.5	167.9	162.9	102.4	95.09	84.96	93.60	83.09	73.52	83.08	75.32	67.30
	106.4	96.40	89.18	163.3	165.5	159.5	100.9	93.52	83.47	92.20	81.72	72.19	84.22	74.32	66.54
	105.3	95.61	88.57	162.1	164.8	159.1	99.92	92.20	83.69	92.12	81.05	71.45	84.08	73.81	66.22
Mean	105.94	96.17	90.11	163.48	164.97	162.50	100.95	94.04	83.34	93.23	82.34	72.97	84.17	73.84	65.98
SD	1.75	0.66	1.17	2.33	1.92	2.45	0.83	1.04	0.92	1.10	1.36	0.84	0.94	1.73	0.84
Cycle1	101.7	93.38	87.47	158.3	162.3	156.7	101.2	92.52	81.89	92.65	82.46	83.90	84.31	72.64	68.00

Formulation code	P4	P6	P8	S1	S3	S5	P4S1	P4S3	P4S5	P6S1	P6S3	P6S5	P8S1	P8S3	P8S5
	105.8	95.12	88.30	158.7	161.6	158.6	100.2	91.24	81.82	91.99	81.56	82.72	84.03	72.70	66.92
	105.5	95.68	88.60	158.5	161.5	159.0	98.82	91.63	81.00	92.04	81.21	82.91	83.16	72.32	67.11
	100.9	94.38	86.78	159.4	157.9	157.4	101.8	92.08	83.47	92.46	81.99	82.93	83.94	72.45	66.95
	104.3	95.40	88.37	159.7	158.1	157.1	102.1	92.01	81.87	91.79	82.24	82.58	83.88	72.63	67.08
	103.6	94.99	87.53	159.8	160.1	157.0	100.7	92.75	82.81	90.93	82.04	81.21	83.74	72.03	66.49
	101.5	93.94	86.91	160.6	158.9	155.6	100.2	92.81	81.97	92.67	82.18	83.37	84.31	73.00	67.13
	103.4	94.73	87.65	159.6	159.7	155.6	99.88	92.56	81.59	92.07	81.31	82.21	83.97	72.81	66.51
	103.5	94.84	88.03	159.2	159.7	158.2	101.0	91.83	81.27	91.49	81.64	81.85	83.95	72.16	66.33
Mean	103.36	94.72	87.74	159.31	159.98	157.24	100.66	92.16	81.97	92.01	81.85	82.63	83.92	72.53	66.95
SD	1.72	0.72	0.64	0.73	1.56	1.21	1.01	0.54	0.76	0.56	0.44	0.80	0.34	0.31	0.50
Cycle2	102.2	94.28	89.14	166.9	166.6	152.9	100.8	93.92	87.00	95.61			86.34	88.51	ตกตะกอน
	104.5	94.29	88.55	163.0	163.9	149.7	100.9	92.20	84.57	93.60			83.74	86.75	
	105.6	95.77	88.14	160.8	161.1	148.3	101.3	91.22	84.86	92.60			84.62	84.94	
	105.8	95.66	91.11	168.8	164.8	151.8	97.95	95.82	87.12	94.54			86.97	87.27	
	104.6	95.06	89.55	164.7	161.4	149.7	98.51	94.33	85.58	93.35			85.99	84.34	
	103.9	94.44	90.05	164.3	162.4	148.3	99.22	93.19	84.57	92.49			84.38	84.25	
	104.9	95.88	89.98	168.8	166.1	151.8	101.7	93.86	85.63	95.09			89.14	91.69	
	105.4	95.40	88.31	166.3	163.1	149.7	100.9	92.86	85.26	93.77			85.51	88.43	

Formulation code	P4	P6	P8	S1	S3	S5	P4S1	P4S3	P4S5	P6S1	P6S3	P6S5	P8S1	P8S3	P8S5
	104.1	95.48	88.50	163.1	162.7	148.6	100.2	92.00	83.87	91.28			84.65	87.83	
Mean	104.56	95.14	89.26	165.19	163.57	150.09	100.16	93.27	85.38	93.59	NA	NA	85.70	87.11	NA
SD	1.10	0.65	0.99	2.73	1.95	1.69	1.31	1.39	1.10	1.36	NA	NA	1.65	2.40	NA
Cycle3	102.8	94.87	87.23	163.3	160.3	153.8	100.0	91.92		92.78	ตกตะกอน				
	104.2	94.58	88.53	164.1	162.4	153.2	99.75	92.30		92.03	ตกตะกอน				
	105.4	95.32	88.04	166.0	157.9	152.4	100.2	92.07		91.61	ตกตะกอน				
	104.1	95.83	88.24	165.3	159.1	156.3	101.6	94.10		91.60	ตกตะกอน				
	103.9	95.69	88.46	164.7	159.0	155.1	100.2	91.70		91.82	ตกตะกอน				
	105.9	94.85	88.50	165.0	158.9	155.1	99.96	92.24		91.39	ตกตะกอน				
	106.2	95.56	88.62	163.3	163.4	154.6	100.8	92.48		92.36	ตกตะกอน				
	105.1	95.39	87.84	162.5	162.2	151.6	99.44	92.67		91.68	ตกตะกอน				
	104.5	95.54	88.55	162.9	162.0	154.9	99.30	92.42		92.33	ตกตะกอน				
Mean	104.68	95.29	88.22	164.12	160.58	154.11	100.14	92.43	NA	91.96	NA	NA	83.93	75.20	NA
SD	1.07	0.43	0.46	1.20	1.96	1.49	0.70	0.69	NA	0.45	NA	NA	0.46	0.36	NA
Cycle4	100.6	92.78	87.41	159.5	158.4	155.3	103.7	93.91		93.16	ตกตะกอน				
	104.0	93.70	88.43	156.6	157.1	154.8	103.8	92.91		92.43	ตกตะกอน				
	106.8	93.53	87.86	159.4	157.4	155.6	103.2	91.72		91.56	ตกตะกอน				
	102.5	94.60	87.50	159.6	158.1	151.7	104.5	94.95		94.57	ตกตะกอน				

Formulation code	P4	P6	P8	S1	S3	S5	P4S1	P4S3	P4S5	P6S1	P6S3	P6S5	P8S1	P8S3	P8S5
	104.0	95.37	87.54	159.3	158.3	152.7	103.4	92.70		93.20			84.15	77.99	
	105.3	95.46	88.53	160.9	157.5	152.8	101.7	92.31		92.51			84.31	77.63	
	103.5	93.53	87.31	159.3	159.4	154.1	100.3	94.97		95.45			92.11	83.64	
	105.7	94.90	87.07	160.7	159.8	153.7	100.3	93.29		93.19			92.39	84.42	
	107.1	94.69	87.39	160.9	159.4	151.0	99.97	93.37		93.00			91.63	83.57	
Mean	104.39	94.28	87.67	159.58	158.38	153.52	102.32	93.35	NA	93.23	NA	NA	87.18	79.97	NA
SD	2.08	0.93	0.50	1.31	0.97	1.60	1.76	1.11	NA	1.16	NA	NA	3.73	3.00	NA
	103.1	95.58	88.69	166.2	150.8	153.8	104.4	89.34		93.15			85.52	76.23	
	106.1	94.92	88.70	164.4	148.7	153.5	104.4	90.43		92.24			84.02	75.46	
	105.6	94.79	88.31	164.5	149.2	151.1	104.5	90.02		91.61			84.38	74.71	
	103.7	93.18	90.10	169.5	150.8	157.8	102.5	90.61		93.27			86.48	75.81	
	107.2	95.48	88.40	168.4	151.8	153.5	101.3	90.79		92.11			85.32	75.52	
	107.7	95.36	88.79	167.7	148.6	154.4	100.7	90.21		92.09			84.39	75.70	
	104.4	99.81	87.93	171.0	152.4	155.6	103.8	89.00		92.03			85.49	76.66	
	105.6	98.93	87.55	166.6	149	152.2	100.7	89.60		91.11			84.18	76.29	
	104.9	98.01	87.46	168.8	150.2	149.9	100.7	90.07		91.87			83.94	75.48	
Mean	105.37	96.23	88.44	167.46	150.17	153.53	102.56	90.01	NA	92.16	NA	NA	84.86	75.76	NA
SD	1.52	2.18	0.79	2.23	1.39	2.35	1.73	0.59	NA	0.68	NA	NA	0.88	0.58	NA

Formulation code	P4	P6	P8	S1	S3	S5	P4S1	P4S3	P4S5	P6S1	P6S3	P6S5	P8S1	P8S3	P8S5
Cycle6	100.4	96.33	89.80	163.5	159	153.8	101.3			92.97			82.02		
	105.6	96.79	88.75	160.9	159.1	150.8	101.4			92.10			82.08		
	105.3	96.54	87.91	161.5	157	151.2	99.81			92.22			82.39		
	104.7	96.01	90.15	164.4	162.9	152.6	100.6			92.41			83.40		
	104.1	95.62	88.55	161.4	158.9	150.9	101.5			93.27			84.69		
	104.8	95.23	89.64	162.5	158.8	150.6	100.5			92.33			84.21		
	103.7	96.73	89.81	165.9	161.1	147.5	102.9			92.26			82.79		
	105.5	97.31	89.18	164.4	159.3	148.5	101.4			90.63			82.37		
	106.0	95.34	88.61	162.7	157.8	148.5	102.1			90.41			83.74		
	Mean	104.5	96.2	89.2	163.0	159.3	150.5	150.5	NA	NA	92.1	NA	NA	83.1	NA
SD	28.04	25.68	23.88	43.92	43.11	41.66	33.52	NA	NA	24.92	NA	NA	22.71	NA	NA

ตารางที่ ข-2 แสดงค่าการกระจายตัวขนาดอนุภาคของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่งที่ศึกษาความคงตัวทางกายภาพภายใต้สภาวะ heating-cooling นาน 6 รอบ

Formulation code	P4	P6	P8	S1	S3	S5	P4S1	P4S3	P4S5	P6S1	P6S3	P6S5	P8S1	P8S3	P8S5
Day 0	0.147	0.135	0.189	0.121	0.083	0.099	0.141	0.143	0.109	0.131	0.117	0.100	0.158	0.125	0.109
	0.142	0.159	0.158	0.098	0.079	0.053	0.128	0.117	0.092	0.151	0.115	0.125	0.155	0.122	0.114
	0.138	0.146	0.166	0.119	0.091	0.077	0.146	0.133	0.12	0.162	0.115	0.112	0.166	0.129	0.121
	0.133	0.152	0.173	0.101	0.092	0.072	0.145	0.121	0.108	0.131	0.116	0.127	0.153	0.136	0.131
	0.133	0.143	0.154	0.100	0.091	0.083	0.115	0.127	0.113	0.125	0.115	0.119	0.145	0.148	0.142
	0.124	0.16	0.164	0.102	0.081	0.064	0.134	0.104	0.101	0.143	0.126	0.122	0.162	0.132	0.101
Mean	0.133	0.143	0.154	0.100	0.091	0.083	0.115	0.127	0.113	0.125	0.115	0.119	0.145	0.148	0.142
	0.163	0.157	0.162	0.105	0.118	0.106	0.137	0.121	0.099	0.134	0.129	0.116	0.141	0.148	0.157
	0.140	0.149	0.143	0.124	0.095	0.092	0.126	0.117	0.115	0.123	0.100	0.123	0.152	0.149	0.148
	0.1408	0.1494	0.1622	0.1043	0.0911	0.0840	0.1334	0.1203	0.1052	0.1389	0.1203	0.1166	0.1530	0.1346	0.1272
	0.0111	0.0084	0.0134	0.0166	0.0115	0.0194	0.0100	0.0133	0.0104	0.0133	0.0138	0.0093	0.0083	0.0113	0.0187
	0.166	0.163	0.182	0.097	0.093	0.06	0.147	0.137	0.108	0.148	0.133	0.224	0.148	0.119	0.17
Cycle1	0.148	0.166	0.151	0.113	0.075	0.084	0.126	0.141	0.094	0.139	0.133	0.228	0.132	0.135	0.179
	0.162	0.154	0.154	0.083	0.087	0.07	0.136	0.127	0.113	0.137	0.133	0.244	0.153	0.124	0.187
	0.139	0.152	0.173	0.092	0.064	0.097	0.127	0.107	0.129	0.141	0.157	0.235	0.151	0.151	0.178

Formulation code	P4	P6	P8	S1	S3	S5	P4S1	P4S3	P4S5	P6S1	P6S3	P6S5	P8S1	P8S3	P8S5
	0.127	0.137	0.147	0.085	0.112	0.114	0.124	0.11	0.119	0.151	0.142	0.206	0.134	0.129	0.158
	0.151	0.149	0.159	0.098	0.061	0.092	0.136	0.107	0.098	0.162	0.124	0.224	0.121	0.138	0.177
	0.1219	0.142	0.168	0.074	0.055	0.116	0.158	0.124	0.095	0.12	0.138	0.229	0.155	0.133	0.17
	0.137	0.157	0.16	0.088	0.102	0.082	0.149	0.096	0.098	0.133	0.132	0.206	0.17	0.121	0.166
	0.138	0.153	0.178	0.088	0.062	0.047	0.13	0.122	0.097	0.152	0.127	0.228	0.114	0.141	0.172
Mean	0.1433	0.1526	0.1636	0.0909	0.0790	0.0847	0.1370	0.1190	0.1057	0.1426	0.1354	0.2249	0.1420	0.1323	0.1730
SD	0.0148	0.0092	0.0123	0.0111	0.0203	0.0232	0.0119	0.0150	0.0124	0.0123	0.0097	0.0123	0.0180	0.0103	0.0084
Cycle2	0.164	0.15	0.155	0.09	0.07	0.079	0.157	0.13	0.152	0.141			0.132	0.288	
	0.142	0.156	0.136	0.104	0.107	0.124	0.149	0.131	0.158	0.136			0.161	0.277	
	0.14	0.139	0.159	0.125	0.078	0.086	0.166	0.124	0.167	0.142			0.145	0.258	
	0.121	0.161	0.169	0.115	0.097	0.092	0.136	0.104	0.149	0.131			0.184	0.252	
	0.13	0.151	0.166	0.098	0.076	0.112	0.154	0.114	0.139	0.155			0.165	0.245	
	0.145	0.152	0.176	0.155	0.092	0.111	0.14	0.108	0.153	0.120			0.148	0.257	
	0.149	0.145	0.158	0.110	0.071	0.084	0.131	0.132	0.134	0.125			0.157	0.325	
	0.139	0.152	0.164	0.110	0.083	0.068	0.137	0.145	0.136	0.121			0.152	0.309	
	0.135	0.165	0.16	0.105	0.084	0.074	0.136	0.133	0.128	0.127			0.174	0.326	
Mean	0.1406	0.1523	0.1603	0.1124	0.0842	0.0922	0.1451	0.1246	0.1462	0.1331	NA	NA	0.1576	0.2819	NA

Formulation code	P4	P6	P8	S1	S3	S5	P4S1	P4S3	P4S5	P6S1	P6S3	P6S5	P8S1	P8S3	P8S5
SD	0.0121	0.0078	0.0111	0.0188	0.0124	0.0192	0.0119	0.0133	0.0127	0.0115	NA	NA	0.0157	0.0317	NA
Cycle3	0.123	0.148	0.164	0.093	0.063	0.083	0.126	0.137	ตกตะกอน	0.148	ตกตะกอน	ตกตะกอน	0.168	0.179	ตกตะกอน
	0.133	0.158	0.154	0.119	0.077	0.107	0.163	0.150		0.147			0.162	0.174	
	0.140	0.157	0.155	0.111	0.111	0.092	0.136	0.149		0.153			0.170	0.173	
	0.160	0.15	0.161	0.112	0.09	0.085	0.125	0.137		0.164			0.143	0.177	
	0.140	0.156	0.143	0.135	0.072	0.082	0.121	0.145		0.158			0.155	0.182	
	0.122	0.148	0.145	0.111	0.08	0.106	0.131	0.144		0.166			0.153	0.152	
	0.131	0.175	0.146	0.085	0.092	0.131	0.134	0.156		0.130			0.143	0.167	
0.138	0.144	0.170	0.117	0.067	0.097	0.134	0.133	0.148	0.163	0.176					
0.134	0.161	0.160	0.086	0.095	0.073	0.156	0.142	0.131	0.165	0.19					
Mean	0.1357	0.1552	0.1553	0.1077	0.0830	0.0951	0.1362	0.1437	NA	0.1494	NA	NA	0.1580	0.1744	NA
SD	0.0113	0.0093	0.0093	0.0166	0.0153	0.0176	0.0142	0.0073	NA	0.0127	NA	NA	0.0101	0.0105	NA
Cycle4	0.129	0.156	0.161	0.087	0.074	0.057	0.168	0.097	ตกตะกอน	0.147	ตกตะกอน	ตกตะกอน	0.154	0.19	ตกตะกอน
	0.143	0.163	0.157	0.073	0.107	0.079	0.191	0.117		0.138			0.151		
	0.116	0.183	0.134	0.077	0.094	0.074	0.176	0.111		0.149			0.159		
	0.152	0.150	0.168	0.11	0.107	0.084	0.148	0.139		0.146			0.15		
0.139	0.137	0.155	0.103	0.071	0.083	0.137	0.154	0.141				0.145	0.175		

Formulation code	P4	P6	P8	S1	S3	S5	P4S1	P4S3	P4S5	P6S1	P6S3	P6S5	P8S1	P8S3	P8S5
	0.155	0.171	0.155	0.081	0.079	0.077	0.15	0.157		0.127			0.166	0.18	
	0.147	0.153	0.148	0.104	0.094	0.072	0.149	0.142		0.127			0.231	0.246	
	0.159	0.152	0.140	0.088	0.064	0.097	0.132	0.157		0.126			0.234	0.259	
	0.137	0.153	0.142	0.104	0.087	0.074	0.147	0.138		0.147			0.223	0.249	
Mean	0.1419	0.1576	0.1511	0.0919	0.0863	0.0774	0.1553	0.1347	NA	0.1387	NA	NA	0.1792	0.2000	NA
SD	0.0135	0.0133	0.0109	0.0136	0.0155	0.0108	0.0191	0.0216	NA	0.0096	NA	NA	0.0381	0.0395	NA
	0.148	0.143	0.144	0.098	0.113	0.081	0.157	0.135		0.153			0.153	0.186	
	0.134	0.145	0.151	0.124	0.091	0.083	0.134	0.109		0.141			0.157	0.177	
	0.116	0.147	0.146	0.103	0.112	0.078	0.133	0.117		0.153			0.136	0.157	
	0.176	0.175	0.171	0.124	0.106	0.085	0.133	0.12		0.140			0.152	0.154	
	0.164	0.148	0.149	0.125	0.065	0.122	0.117	0.145		0.162			0.159	0.176	
	0.162	0.15	0.163	0.108	0.111	0.110	0.133	0.149		0.133			0.154	0.173	
	0.155	0.199	0.172	0.098	0.084	0.072	0.133	0.124		0.144			0.14	0.183	
	0.166	0.211	0.176	0.129	0.109	0.091	0.144	0.123		0.155			0.132	0.179	
	0.138	0.201	0.161	0.123	0.096	0.124	0.131	0.138		0.153			0.136	0.181	
Mean	0.151	0.1688	0.1592	0.1147	0.0986	0.094	0.135	0.1289	NA	0.1482	NA	NA	0.1466	0.174	NA
SD	0.0189	0.0280	0.0121	0.0127	0.0162	0.0196	0.0107	0.0135	NA	0.0092	NA	NA	0.0104	0.0112	NA

Formulation code	P4	P6	P8	S1	S3	S5	P4S1	P4S3	P4S5	P6S1	P6S3	P6S5	P8S1	P8S3	P8S5
Cycle6	0.13	0.165	0.16	0.108	0.102	0.118	0.136			0.133			0.152		
	0.141	0.157	0.162	0.109	0.105	0.100	0.116			0.142			0.145		
	0.151	0.165	0.151	0.097	0.091	0.079	0.129			0.153			0.169		
	0.142	0.152	0.159	0.106	0.092	0.114	0.149			0.137			0.175		
	0.158	0.132	0.157	0.142	0.087	0.099	0.153			0.15			0.172		
	0.13	0.163	0.16	0.094	0.077	0.093	0.139			0.151			0.167		
	0.149	0.158	0.151	0.104	0.115	0.082	0.172			0.159			0.159		
	0.135	0.175	0.176	0.093	0.077	0.100	0.152			0.146			0.15		
	0.144	0.153	0.164	0.129	0.069	0.093	0.157			0.152			0.16		
	Mean	0.1422	0.1578	0.1600	0.1091	0.0906	0.0976	0.1448	NA	NA	0.1470	NA	NA	0.1610	NA
SD	0.0095	0.0120	0.0075	0.0164	0.0149	0.0129	0.0166	NA	NA	0.0083	NA	NA	0.0105	NA	NA

Formulation code	P4	P6	P8	S1	S3	S5	P4S1	P4S3	P4S5	P6S1	P6S3	P6S5	P8S1	P8S3	P8S5
	-20.3	-17.8	-22.2	-48.7	-44.9	-44.9	-22.0			-27.7			-23.1		
	-21.0	-16.5	-15.2	-49.5	-47.2	-46.3	-22.8			-22.1			-24.2		
	-34.3	-15.8	-17.4	-51.5	-47.3	-45.0	-26.6			-19.6			-22.5		
	-22.7	-16.5	-17.5	-51.0	-48.1	-45.2	-29.6			18.9			-23.8		
	-20.7	-16.5	-16.4	-50.9	-47.3	-44.7	-36.2			-19.4			-27.1		
Mean	-22.7	-17.2	-17.7	-48.2	-48.5	-44.5	-26.4	NA	NA	-18.6	NA	NA	-24.7	NA	NA
SD	4.42	1.01	4.96	3.07	2.98	1.49	4.51	NA	NA	15.41	NA	NA	2.12	NA	NA

ตารางที่ ข-4 แสดงค่า pH ของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปลวที่ศึกษาความคงตัวของกายภาพภายใต้สภาวะ heating-cooling นาน 6 รอบ

Formulation Code	P4	P6	P8	S1	S3	S5	P4S1	P4S3	P4S5	P6S1	P6S3	P6S5	P8S1	P8S3	P8S5
Day 0	7.06	7.04	7.10	7.56	7.26	6.80	6.76	6.81	6.57	6.99	6.69	6.57	6.93	6.66	6.82
	7.06	6.91	7.10	6.45	6.92	6.28	6.77	7.09	6.67	6.67	6.63	6.75	7.05	6.39	6.44
	7.01	6.91	7.11	6.97	7.09	6.89	7.07	7.09	6.9	7.18	6.71	6.80	7.30	6.82	6.76
Mean	7.043	6.953	7.103	6.993	7.090	6.657	6.867	6.997	6.713	6.947	6.677	6.707	7.093	6.623	6.673
SD	0.029	0.075	0.006	0.555	0.170	0.329	0.176	0.162	0.169	0.258	0.042	0.121	0.189	0.217	0.204
Cycle6	7.5	7.29	7.30	8.08	7.41	7.81	7.95	ตกตะกอน	ตกตะกอน	7.91	ตกตะกอน	ตกตะกอน	7.60	ตกตะกอน	ตกตะกอน
	7.46	7.35	7.26	8.01	7.79	7.70	7.92	ตกตะกอน	ตกตะกอน	7.88	ตกตะกอน	ตกตะกอน	7.77	ตกตะกอน	ตกตะกอน
	7.41	7.40	7.88	7.87	7.85	7.78	7.94	ตกตะกอน	ตกตะกอน	7.88	ตกตะกอน	ตกตะกอน	7.96	ตกตะกอน	ตกตะกอน
Mean	7.457	7.347	7.480	7.987	7.683	7.763	7.937	NA	NA	7.890	NA	NA	7.777	NA	NA
SD	0.045	0.055	0.347	0.107	0.239	0.057	0.015	NA	NA	0.017	NA	NA	0.180	NA	NA

ตารางที่ ข-5 แสดงค่าความหนืด (cP) ของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล้าที่ศึกษาความคงตัวของกายภาพภายใต้สภาวะ heating-cooling นาน 6 รอบ

Formulation Code	P4	P6	P8	S1	S3	S5	P4S1	P4S3	P4S5	P6S1	P6S3	P6S5	P8S1	P8S3	P8S5
Day 0	2.80	3.31	3.63	3.33	5.14	6.34	3.49	5.76	12.4	3.96	7.06	12.9	3.88	8.94	17.4
	3.06	3.32	3.61	3.33	4.93	6.30	3.42	5.76	12.1	3.94	7.12	13.1	3.92	8.72	17.5
	2.82	3.31	3.68	3.36	5.17	6.32	3.42	5.82	12.1	3.96	6.93	13.0	3.91	8.84	17.8
Mean	2.89	3.31	3.64	3.34	5.08	6.32	3.44	5.78	12.20	3.95	7.04	13.00	3.90	8.83	17.57
SD	0.14	0.01	0.04	0.02	0.13	0.02	0.04	0.03	0.17	0.01	0.10	0.10	0.02	0.11	0.21
Cycle6	2.90	3.19	3.75	3.21	4.19	3.61	3.10	ตกตะกอน	ตกตะกอน	3.58	ตกตะกอน	ตกตะกอน	3.55	ตกตะกอน	ตกตะกอน
	3.08	3.48	3.76	3.04	3.88	3.16	3.00	ตกตะกอน	ตกตะกอน	3.60	ตกตะกอน	ตกตะกอน	3.72	ตกตะกอน	ตกตะกอน
	3.10	3.44	3.74	2.90	3.87	3.64	2.79	ตกตะกอน	ตกตะกอน	3.60	ตกตะกอน	ตกตะกอน	3.49	ตกตะกอน	ตกตะกอน
Mean	3.03	3.37	3.75	3.05	3.98	3.47	2.96	NA	NA	3.59	NA	NA	3.59	NA	NA
SD	0.11	0.16	0.01	0.16	0.18	0.27	0.16	NA	NA	0.01	NA	NA	0.12	NA	NA

ตารางที่ ๖-6 แสดงข้อมูลคุณลักษณะของตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin เมื่อศึกษาความคงตัวของทางกายภาพที่อุณหภูมิ 25 °C

ชนิดสารทำอิมัลชัน	Size (nm)			PDI			Zeta potential (mV)			pH			Viscosity (cP)		
	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC
Day 0	111.7	167.2	117.4	0.162	0.113	0.104	-20.0	-43.5	-27.2	5.63	7.30	6.86	2.74	2.94	3.26
	109.3	174.9	112.3	0.150	0.107	0.151	-23.0	-47.9	-24.4	5.76	7.24	6.93	2.66	3.09	3.19
	110.2	169.7	113.8	0.131	0.103	0.138	-17.5	-50.4	-27.6	5.63	7.24	6.94	2.79	2.90	3.17
Mean	110.4	170.6	114.5	0.148	0.108	0.131	-20.2	-47.3	-26.4	5.67	7.26	6.91	2.73	2.98	3.21
SD	1.21	3.93	2.62	0.02	0.01	0.02	2.75	3.49	1.74	0.08	0.03	0.04	0.07	0.10	0.05
Day 4	115.4	177.2	121.2	0.141	0.099	0.151	-22.7	-46.5	-29.6	NA					
	113.5	176.5	119.0	0.123	0.092	0.158	-24.7	-52.6	-27.0	NA					
	114.7	175.8	120.0	0.125	0.101	0.151	-25.5	-45.2	-29.4	NA					
Mean	114.5	176.5	120.1	0.130	0.097	0.153	-24.3	-48.1	-28.7	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SD	0.96	0.70	1.10	0.01	0.00	0.00	1.44	3.95	1.45	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Day 7	111.0	168.7	116.7	0.111	0.124	0.130	-18.7	-45.6	-29.1	NA					
	110.4	172.4	121.1	0.131	0.089	0.155	-18.5	-43.9	-27.4	NA					
	110.8	174.0	119.7	0.145	0.081	0.139	-18.7	-47.5	-29.0	NA					
Mean	110.7	171.7	119.2	0.129	0.098	0.141	-18.6	-45.7	-28.5	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SD	0.31	2.72	2.25	0.02	0.02	0.01	0.12	1.80	0.95	NA	NA	NA	NA	NA	NA

ชนิดสารทำ อิมัลชัน	Size (nm)			PDI			Zeta potential (mV)			pH			Viscosity (cP)		
	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC
Day 10	115.8	181.9	119.8	0.153	0.096	0.156	-29.7	-50.0	-28.0	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	113.7	182.7	118.9	0.167	0.118	0.147	-27.9	-50.4	-31.1	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	112.2	181.7	118.8	0.159	0.111	0.121	-22.3	-51.0	-30.0	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Mean	113.9	182.1	119.2	0.160	0.108	0.141	-26.6	-50.5	-29.7	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SD	1.81	0.53	0.55	0.01	0.01	0.02	3.86	0.50	1.57	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Day 15	112.9	165.7	118.5	0.146	0.105	0.147	-15.4	-38.2	-27.1	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	111.5	171.9	117.3	0.137	0.122	0.133	-17.3	-43.5	-25.4	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	111.8	176.9	119.6	0.149	0.067	0.137	-13.4	-44.2	-21.9	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Mean	112.1	171.5	118.5	0.144	0.098	0.139	-15.4	-42.0	-24.8	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SD	0.74	5.61	1.15	0.01	0.03	0.01	1.95	3.28	2.65	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Day 23	123.3	182.8	123.5	0.149	0.070	0.151	-26.0	-48.9	-34.2	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	116.2	176.3	120.5	0.149	0.080	0.120	-26.1	-48.0	-30.3	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	116.9	179.1	120.6	0.136	0.104	0.123	-19.7	-46.6	-29.1	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Mean	118.8	179.4	121.5	0.145	0.085	0.131	-23.9	-47.8	-31.2	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SD	3.91	3.26	1.70	0.01	0.02	0.02	3.67	1.16	2.67	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Day 30	110.5	177.8	124.4	0.151	0.102	0.143	-21.9	-48.7	-31.3	5.53	7.23	6.65	2.66	3.10	3.37

	Size (nm)			PDI			Zeta potential (mV)			pH			Viscosity (cP)		
	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC
ชนิดสารทำ อิมัลชัน															
	113.9	180.2	124.4	0.149	0.112	0.153	-20.3	-47.6	-31.9	5.51	7.24	6.68	2.91	3.07	3.13
	115.8	183.4	123.1	0.134	0.087	0.140	-21.0	-47.3	-32.1	5.53	7.23	6.68	2.66	3.05	3.27
Mean	113.4	180.5	124.0	0.145	0.100	0.145	-21.1	-47.9	-31.8	5.52	7.23	6.67	2.74	3.07	3.26
SD	2.69	2.81	0.75	0.01	0.01	0.01	0.80	0.74	0.42	0.01	0.01	0.02	0.14	0.03	0.12
Day 100	113.5	163.8	117.5	0.141	0.097	0.135	-23.4	-47.2	-36.1	NA					
	109.3	175.8	124.8	0.155	0.098	0.099	-24.2	-42.0	-34.0	NA					
	110.7	169.0	116.3	0.155	0.115	0.128	-22.3	-48.6	-32.5	NA					
Mean	111.2	169.5	119.5	0.150	0.103	0.121	-23.3	-45.9	-34.2	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SD	2.14	6.02	4.60	0.01	0.01	0.02	0.95	3.48	1.81	NA	NA	NA	NA	NA	NA

ตารางที่ ๗-7 แสดงข้อมูลคุณลักษณะของตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin เมื่อศึกษาความคงตัวของร่างกายที่อุณหภูมิ 5 °C

ชนิดสารทำอิมัลชัน	Size (nm)			PDI			Zeta potential (mV)			pH			Viscosity (cP)		
	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC
Day 0	110.6	169.7	113.4	0.147	0.106	0.137	-16.0	-49.8	-27.5	5.84	7.19	6.97	2.48	2.73	3.31
	110.5	172.2	113.9	0.154	0.097	0.144	-22.1	-48.3	-27.7	5.65	7.27	6.97	2.42	2.75	3.29
	111.5	171.2	113.4	0.153	0.111	0.164	-18.4	-51.2	-34.4	5.85	7.28	6.95	2.44	2.78	3.42
Mean	110.9	171.0	113.6	0.151	0.105	0.148	-18.8	-49.8	-29.9	5.78	7.25	6.96	2.45	2.7533	3.34
SD	0.55	1.26	0.29	0.00	0.01	0.01	3.07	1.45	3.93	0.11	0.05	0.01	0.03	0.03	0.07
Day 4	113.8	177.4	117.7	0.161	0.113	0.139	-16.7	-50.1	-29.2	NA					
	112.1	174.4	116.7	0.147	0.075	0.135	-19.4	-47.9	-28.1	NA					
	111.5	179.3	118.1	0.151	0.100	0.139	-22.5	-50.9	-30.4	NA					
Mean	112.5	177.0	117.5	0.153	0.096	0.138	-19.5	-49.6	-29.2	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SD	1.19	2.47	0.72	0.01	0.02	0.00	2.90	1.55	1.15	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Day 7	115.7	179.6	119.5	0.120	0.102	0.132	-18.3	-48.7	-24.1	NA					
	114.3	184.9	118.9	0.145	0.091	0.150	-17.1	-47.7	-26.7	NA					
	116.5	183.6	120.9	0.137	0.100	0.143	-16.6	-51.2	-24.8	NA					
Mean	115.5	182.7	119.8	0.134	0.098	0.142	-17.3	-49.2	-25.2	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SD	1.11	2.76	1.03	0.01	0.01	0.01	0.87	1.80	1.35	NA	NA	NA	NA	NA	NA

	Size (nm)			PDI			Zeta potential (mV)			pH			Viscosity (cP)		
	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC
ชนิดสารทำ อิมัลชัน															
Day 10	114.0	177.0	120.7	0.134	0.106	0.132	-19.1	-48.1	-34.3	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	113.6	175.8	119.4	0.142	0.124	0.133	-20.3	-46.1	-31.6	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	114.6	176.0	119.4	0.141	0.074	0.152	-19.9	-47.7	-32.2	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Mean	114.1	176.3	119.8	0.139	0.101	0.139	-19.8	-47.3	-32.7	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SD	0.50	0.64	0.75	0.00	0.03	0.01	0.61	1.06	1.42	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Day 15	118.3	179.3	117.4	0.136	0.109	0.138	-21.1	-43.0	-28.1	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	120.0	180.9	116.9	0.123	0.094	0.135	-19.9	-47.3	-28.8	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	118.0	181.2	117.8	0.140	0.096	0.118	-21.2	-45.7	-28.3	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Mean	118.8	180.5	117.4	0.133	0.100	0.130	-20.7	-45.3	-28.4	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SD	1.08	1.02	0.45	0.01	0.01	0.01	0.72	2.17	0.36	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Day 23	113.9	175.4	116.1	0.171	0.104	0.166	-18.3	-46.7	-27.3	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	114.3	176.0	115.3	0.143	0.091	0.130	-17.5	-50.7	-28.1	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	112.5	177.8	118.9	0.152	0.065	0.104	-18.1	-49.1	-26.4	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Mean	113.6	176.4	116.8	0.155	0.087	0.133	-18.0	-48.8	-27.3	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SD	0.95	1.25	1.89	0.01	0.02	0.03	0.42	2.01	0.85	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Day 30	115.9	187.1	118.5	0.146	0.115	0.149	-19.0	-47.2	-28.2	5.71	7.43	7.08	2.89	3.16	3.47

	Size (nm)			PDI			Zeta potential (mV)			pH			Viscosity (cP)		
	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC	PS80	SC	PS80 +SC
ชนิดสารทำ อิมัลชัน															
	116.0	184.6	121.3	0.154	0.090	0.156	-17.6	-45.5	-25.2	5.69	7.43	7.07	2.88	3.20	3.53
	116.3	181.3	121.8	0.143	0.113	0.148	-16.9	-49.7	-26.0	5.69	7.43	7.06	2.86	3.18	3.59
Mean	116.1	184.3	120.5	0.148	0.106	0.151	-17.8	-47.5	-26.5	5.70	7.43	7.07	2.88	3.18	3.53
SD	0.21	2.91	1.78	0.01	0.01	0.00	1.07	2.11	1.55	0.01	0.00	0.01	0.02	0.02	0.06
Day 100															
	111.2	178.1	116.2	0.150	0.010	0.167	-20.9	-48.5	-27.5	NA					
	113.9	178.8	115.1	0.134	0.069	0.133	-24.3	-48.2	-27.8	NA					
	115.8	180.4	112.6	0.157	0.106	0.155	-22.1	-50.8	-27.0	NA					
Mean	113.6	179.1	114.6	0.147	0.062	0.1517	-22.4	-49.2	-27.4	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SD	2.31	1.18	1.84	0.01	0.05	0.02	1.72	1.42	0.40	NA	NA	NA	NA	NA	NA

ตารางที่ ข-8 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ astaxanthin (Abs), ความเข้มข้น astaxanthin ($\mu\text{g/ml}$) และ % astaxanthin remaining ในตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin เมื่อศึกษาความคงตัวทางเคมีที่อุณหภูมิ 25 °C

	PS80			SC			PS80+SC			astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว		
	Abs	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	%Axt คงเหลือ
Day 0	0.5133	22.7843	99.8409	0.5119	22.7233	99.2262	0.5426	24.0610	99.1739	0.3105	27.8954	99.6886
	0.5170	22.9455	100.5474	0.5141	22.8192	99.6448	0.5439	24.1176	99.4073	0.3087	27.7386	99.1280
	0.5121	22.7320	99.6118	0.5219	23.1590	101.1289	0.5551	24.6057	101.4188	0.3153	28.3137	101.1834
Mean	0.5141	22.8206	100.0000	0.5160	22.9005	100.0000	0.5472	24.2614	100.0000	0.3115	27.9826	100.0000
SD	0.0026	0.1113	0.4877	0.0053	0.2290	0.9998	0.0069	0.2995	1.2343	0.0034	0.2973	1.0625
Day 3	0.2188	9.9521	43.6100	0.3674	16.4270	71.7321	0.3558	15.9216	65.6250	0.2856	25.7255	91.9340
	0.2064	9.4118	41.2424	0.3634	16.2527	70.9710	0.3580	16.0174	66.0201	0.2729	24.6187	87.9788
	0.2224	10.1089	44.2974	0.3578	16.0087	69.9055	0.3872	17.2898	71.2644	0.2653	23.9564	85.6120
Mean	0.2159	9.8243	43.0499	0.3629	16.2295	70.8695	0.3670	16.4096	67.6365	0.2746	24.7669	88.5083
SD	0.0084	0.3657	1.6027	0.0048	0.2101	0.9175	0.0175	0.7638	3.1480	0.0103	0.8938	3.1941
Day 6	0.2045	9.3290	40.8796	0.3012	13.5425	59.1362	0.3656	16.3486	67.3851	0.2188	19.9041	71.1305
	0.2039	9.3028	40.7650	0.3024	13.5948	59.3645	0.3662	16.3747	67.4928	0.2064	18.8235	67.2688
	0.2131	9.7037	42.5216	0.2965	13.3377	58.2419	0.3588	16.0523	66.1638	0.2224	20.2179	72.2516

	PS80			SC			PS80+SC			astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว		
	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ
Mean	0.2072	9.4452	41.3887	0.3000	13.4916	58.9142	0.3635	16.2585	67.0139	0.2159	19.6485	70.2170
SD	0.0051	0.2243	0.9828	0.0031	0.1359	0.5933	0.0041	0.1791	0.7382	0.0084	0.7315	2.6140
Day 9	0.1686	7.7647	34.0249	0.2588	11.6950	51.0687	0.3131	14.0610	57.9562	0.1897	17.3682	62.0679
	0.1679	7.7342	33.8913	0.2647	11.9521	52.1913	0.3139	14.0959	58.0999	0.1835	16.8279	60.1370
	0.1820	8.3486	36.5835	0.2626	11.8606	51.7917	0.3210	14.4052	59.3750	0.1851	16.9673	60.6353
Mean	0.1728	7.9492	34.8332	0.2620	11.8359	51.6839	0.3160	14.1874	58.4770	0.1861	17.0545	60.9467
SD	0.0079	0.3462	1.5172	0.0030	0.1303	0.5690	0.0043	0.1895	0.7810	0.0032	0.2805	1.0024
Day 14	0.1541	7.1329	31.2564	0.2159	9.8257	42.9061	0.2382	10.7974	44.5043	0.1884	17.2549	61.6630
	0.1471	6.8279	29.9198	0.2149	9.7821	42.7158	0.2504	11.3290	46.6954	0.1861	17.0545	60.9467
	0.1458	6.7712	29.6716	0.2379	10.7843	47.0920	0.2469	11.1765	46.0668	0.1752	16.1046	57.5522
Mean	0.1490	6.9107	30.2826	0.2229	10.1307	44.2380	0.2452	11.1009	45.7555	0.1832	16.8046	60.0540
SD	0.0045	0.1945	0.8524	0.0130	0.5664	2.4735	0.0063	0.2737	1.1282	0.0071	0.6145	2.1960
Day 21	0.1326	6.1961	27.1512	0.1767	8.1176	35.4475	0.2029	9.2593	38.1645	0.1218	11.4510	40.9218
	0.1425	6.6275	29.0415	0.1768	8.1220	35.4665	0.2018	9.2113	37.9670	0.1363	12.7146	45.4376
	0.1419	6.6013	28.9269	0.1673	7.7081	33.6589	0.2141	9.7473	40.1760	0.1307	12.2266	43.6936

	PS80			SC			PS80+SC			astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว		
	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ
Mean	0.1390	6.4749	28.3732	0.1736	7.9826	34.8576	0.2063	9.4060	38.7692	0.1296	12.1307	43.3510
SD	0.0056	0.2419	1.0598	0.0055	0.2377	1.0382	0.0068	0.2966	1.2224	0.0073	0.6372	2.2773
Day 29	0.1167	5.5033	24.1153	0.1686	7.7647	33.9063	0.2011	9.1808	37.8412	0.1133	10.7102	38.2747
	0.1110	5.2549	23.0270	0.1756	8.0697	35.2382	0.1833	8.4052	34.6444	0.1108	10.4924	37.4961
	0.1234	5.7952	25.3946	0.1699	7.8214	34.1536	0.2061	9.3987	38.7392	0.1231	11.5643	41.3267
Mean	0.1170	5.5178	24.1790	0.1714	7.8853	34.4327	0.1968	8.9949	37.0750	0.1157	10.9223	39.0325
SD	0.0062	0.2704	1.1851	0.0037	0.1622	0.7084	0.0120	0.5222	2.1523	0.0065	0.5665	2.0246
Day 64	0.0755	3.7094	16.2545	0.1200	5.6471	24.6591	0.1293	6.0523	24.9461	0.0863	8.3573	29.8661
	0.0822	4.0000	17.5280	0.1206	5.6732	24.7733	0.1287	6.0261	24.8384	0.0847	8.2179	29.3678
	0.0823	4.0044	17.5471	0.1287	6.0261	26.3145	0.0998	4.7669	19.6480	0.0852	8.2614	29.5235
Mean	0.0800	3.9046	17.1099	0.1231	5.7821	25.2489	0.1193	5.6151	23.1442	0.0854	8.2789	29.5858
SD	0.0039	0.1691	0.7409	0.0049	0.2117	0.9245	0.0169	0.7347	3.0283	0.0008	0.0713	0.2549
Day 100	0.0172	1.1678	5.1171	0.0703	3.4815	15.2026	0.1005	4.7974	19.7737	0.0873	8.4444	30.1775
	0.0174	1.1765	5.1553	0.0773	3.7865	16.5345	0.1149	5.4248	22.3599	0.0862	8.3486	29.8349
	0.0188	1.2375	5.4226	0.0760	3.7298	16.2872	0.1141	5.3900	22.2162	0.1017	9.6993	34.6621

	PS80			SC			PS80+SC			astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว		
	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ
Mean	0.0178	1.1939	5.2317	0.0745	3.6659	16.0081	0.1098	5.2041	21.4500	0.0917	8.8308	31.5582
SD	0.0009	0.0380	0.1665	0.0037	0.1622	0.7084	0.0081	0.3526	1.4534	0.0086	0.7537	2.6935

ตารางที่ ๗-9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของ astaxanthin (Abs), ความเข้มข้น astaxanthin (µg/ml) และ % astaxanthin remaining ในตำรับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin เมื่อศึกษาความคงตัวทางเคมีที่อุณหภูมิ 5 °C

	PS80			SC			PS80+SC			astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว		
	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ
Day 0	0.5132	22.7800	101.7055	0.5159	22.8976	99.8986	0.5759	25.5120	101.1052	0.3037	27.3028	98.9889
	0.5141	22.8192	101.8806	0.5170	22.9455	100.1077	0.5677	25.1547	99.6892	0.2975	26.7625	97.0300
	0.4860	21.5948	96.4140	0.5164	22.9194	99.9937	0.5649	25.0327	99.2057	0.3195	28.6797	103.9810
Mean	0.5044	22.3980	100.0000	0.5164	22.9208	100.0000	0.5695	25.2331	100.0000	0.3069	27.5817	100.0000
SD	0.0160	0.6959	3.1068	0.0006	0.0240	0.1047	0.0057	0.2491	0.9872	0.0113	0.9886	3.5841

	PS80			SC			PS80+SC			astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว		
	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ
Day 3	0.3681	16.4575	73.4777	0.4288	19.1024	83.3407	0.4868	21.6296	85.7192	0.3014	27.1024	98.2622
	0.3814	17.0370	76.0651	0.4345	19.3508	84.4243	0.5122	22.7364	90.1053	0.3041	27.3377	99.1153
	0.3539	15.8388	70.7153	0.4693	20.8671	91.0399	0.5365	23.7952	94.3015	0.2888	26.0044	94.2812
Mean	0.3678	16.4444	73.4194	0.4442	19.7734	86.2683	0.5118	22.7204	90.0420	0.2981	26.8148	97.2196
SD	0.0138	0.5992	2.6754	0.0219	0.9553	4.1677	0.0249	1.0829	4.2915	0.0082	0.7117	2.5802
Day 6	0.3301	14.8017	66.0852	0.3841	17.1547	74.8432	0.4836	21.4902	85.1666	0.2849	25.6645	93.0490
	0.3300	14.7974	66.0658	0.3688	16.4880	71.9346	0.5010	22.2484	88.1713	0.2827	25.4728	92.3539
	0.3303	14.8105	66.1241	0.3670	16.4096	71.5924	0.5129	22.7669	90.2262	0.2781	25.0719	90.9005
Mean	0.3301	14.8032	66.0917	0.3733	16.6841	72.7901	0.4992	22.1685	87.8547	0.2819	25.4031	92.1011
SD	0.0002	0.0067	0.0297	0.0094	0.4094	1.7863	0.0147	0.6421	2.5446	0.0035	0.3024	1.0963
Day 9	0.3021	13.5817	60.6381	0.3459	15.4902	67.5813	0.5137	22.8017	90.3644	0.2841	25.5948	92.7962
	0.3035	13.6427	60.9104	0.3826	17.0893	74.5580	0.4793	21.3028	84.4241	0.2695	24.3224	88.1833
	0.3162	14.1961	63.3811	0.3850	17.1939	75.0143	0.4930	21.8998	86.7898	0.2687	24.2527	87.9305
Mean	0.3073	13.8068	61.6432	0.3712	16.5911	72.3845	0.4953	22.0015	87.1928	0.2741	24.7233	89.6367
SD	0.0078	0.3385	1.5112	0.0219	0.9549	4.1660	0.0173	0.7546	2.9906	0.0087	0.7555	2.7392

	PS80			SC			PS80+SC			astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว		
	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ
Day 14	0.2715	12.2484	54.6852	0.3227	14.4793	63.1709	0.4270	19.0240	75.3929	0.2639	23.8448	86.4516
	0.2734	12.3312	55.0548	0.3390	15.1895	66.2696	0.4274	19.0414	75.4619	0.2676	24.1674	87.6211
	0.3017	13.5643	60.5603	0.3591	16.0654	70.0906	0.4870	21.6383	85.7538	0.2830	25.5100	92.4890
Mean	0.2822	12.7146	56.7667	0.3403	15.2447	66.5104	0.4471	19.9012	78.8695	0.2715	24.5074	88.8539
SD	0.0169	0.7370	3.2905	0.0182	0.7945	3.4661	0.0345	1.5044	5.9620	0.0101	0.8831	3.2019
Day 21	0.2307	10.4706	46.7479	0.2925	13.1634	57.4298	0.4498	20.0174	79.3300	0.2736	24.6797	89.4787
	0.2475	11.2026	50.0162	0.2993	13.4597	58.7225	0.4285	19.0893	75.6519	0.2604	23.5294	85.3081
	0.2451	11.0980	49.5493	0.2894	13.0283	56.8405	0.4356	19.3987	76.8779	0.2261	20.5403	74.4708
Mean	0.2411	10.9237	48.7712	0.2937	13.2171	57.6643	0.4380	19.5018	77.2866	0.2534	22.9165	83.0858
SD	0.0091	0.3959	1.7676	0.0051	0.2207	0.9627	0.0108	0.4726	1.8728	0.0245	2.1367	7.7468
Day 29	0.2094	9.5425	42.6042	0.2781	12.5359	54.6924	0.4320	19.2418	76.2563	0.2529	22.8758	82.9384
	0.2289	10.3922	46.3978	0.2807	12.6492	55.1866	0.4401	19.5948	77.6550	0.2524	22.8322	82.7804
	0.2236	10.1612	45.3667	0.2627	11.8649	51.7648	0.4699	20.8932	82.8009	0.2486	22.5011	81.5798
Mean	0.2206	10.0320	44.7896	0.2738	12.3500	53.8812	0.4473	19.9099	78.9040	0.2513	22.7364	82.4329
SD	0.0101	0.4393	1.9615	0.0097	0.4239	1.8495	0.0200	0.8697	3.4465	0.0024	0.2049	0.7430

	PS80			SC			PS80+SC			astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว		
	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ	Abs	ความเข้มข้น (µg/ml)	%Axt คงเหลือ
Day 64	0.1701	7.8301	34.9588	0.2610	11.7908	51.4416	0.3674	16.4270	65.1010	0.2569	23.2244	84.2022
	0.1569	7.2549	32.3909	0.2624	11.8519	51.7077	0.3693	16.5098	65.4291	0.2555	23.1024	83.7599
	0.1571	7.2636	32.4298	0.2207	10.0349	43.7805	0.3899	17.4074	68.9864	0.2394	21.6993	78.6730
Mean	0.1614	7.4495	33.2598	0.2480	11.2259	48.9766	0.3755	16.7814	66.5055	0.2506	22.6754	82.2117
SD	0.0076	0.3296	1.4715	0.0237	1.0319	4.5019	0.0125	0.5437	2.1547	0.0097	0.8475	3.0726
Day 100	0.1659	7.6471	34.1418	0.2573	11.6296	50.7382	0.3161	14.1917	56.2424	0.2229	20.2614	73.4597
	0.1721	7.9172	35.3479	0.2123	9.6688	42.1836	0.3261	14.6275	57.9693	0.1943	17.7691	64.4234
	0.1717	7.8998	35.2701	0.2123	9.6688	42.1836	0.3253	14.5926	57.8311	0.2247	20.4183	74.0284
Mean	0.1699	7.8214	34.9199	0.2273	10.3224	45.0352	0.3225	14.4706	57.3476	0.2140	19.4829	70.6372
SD	0.0035	0.1512	0.6750	0.0260	1.1321	4.9390	0.0056	0.2421	0.9596	0.0171	1.4863	5.3888

ภาคผนวก ค

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1. คำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า

1.1 ลักษณะทางกายภาพ

ตารางที่ ค-1 แสดงผลการวิเคราะห์ student's T-test เพื่อศึกษาผลของชนิดสารทำอิมัลชันเดี่ยวระหว่าง polysorbate 80 และ sodium caseinate ต่อขนาดอนุภาค (nm) ของคำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า

Group Statistics

	TypeEA	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
sizeDay0	P80	27	97.4089	6.75839	1.30065
	SC	27	163.6481	2.39171	.46029

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances					t-test for Equality of Means			
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
sizeDay0	Equal variances assumed	27.977	.000	-48.010	52	.000	-66.23926	1.37970	-69.00782	-63.47070
	Equal variances not assumed			-48.010	32.412	.000	-66.23926	1.37970	-69.04821	-63.43031

ตารางที่ ค-2 แสดงการวิเคราะห์ One-way ANOVA และ Tukey's multiple comparison เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นสารทำอิมัลชันเดี่ยว (a) polysorbate 80 และ (b) sodium caseinate แยกตามชนิดสารทำอิมัลชัน ต่อขนาดอนุภาค (nm) ของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า

(a) polysorbate 80

ANOVA

sizeDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1148.687	2	574.344	354.482	.000
Within Groups	38.886	24	1.620		
Total	1187.573	26			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: sizeDay0

Tukey HSD

(I) ConcP80	(J) ConcP80	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
single P4	single P6	9.77444*	.60004	.000	8.2760	11.2729
	single P8	15.83222*	.60004	.000	14.3337	17.3307
single P6	single P4	-9.77444*	.60004	.000	-11.2729	-8.2760
	single P8	6.05778*	.60004	.000	4.5593	7.5563
single P8	single P4	-15.83222*	.60004	.000	-17.3307	-14.3337
	single P6	-6.05778*	.60004	.000	-7.5563	-4.5593

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(b) sodium caseinate

ANOVA

sizeDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27.772	2	13.886	2.755	.084
Within Groups	120.956	24	5.040		
Total	148.727	26			



Multiple Comparisons

Dependent Variable: sizeDay0

Tukey HSD

(I) ConcSC	(J) ConcSC	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
single s1	single s3	-1.48889	1.05828	.353	-4.1317	1.1539
	single s5	.97778	1.05828	.631	-1.6651	3.6206
single s3	single s1	1.48889	1.05828	.353	-1.1539	4.1317
	single s5	2.46667	1.05828	.071	-.1762	5.1095
single s5	single s1	-.97778	1.05828	.631	-3.6206	1.6651
	single s3	-2.46667	1.05828	.071	-5.1095	.1762

ตารางที่ ค-3 แสดงการวิเคราะห์ One-way ANOVA และ Tukey's / Dunnett's T3 multiple comparison เพื่อศึกษาผลของการใช้สารทำอิมัลชันชนิดที่สอง ที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับการใช้สารทำอิมัลชันเดี่ยว ต่อขนาดอนุภาค (nm) ของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า

(a) Polysorbate 80 ความเข้มข้น 4%

ANOVA

sizeDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2586.888	3	862.296	608.039	.000
Within Groups	45.381	32	1.418		
Total	2632.269	35			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: sizeDay0

Tukey HSD

(I) ConcP80	(J) ConcP80	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
single P4	mix P4S1	4.99778*	.56138	.000	3.4768	6.5188
	mix P4S3	11.90444*	.56138	.000	10.3835	13.4254
	mix P4S5	22.60333*	.56138	.000	21.0824	24.1243
mix P4S1	single P4	-4.99778*	.56138	.000	-6.5188	-3.4768
	mix P4S3	6.90667*	.56138	.000	5.3857	8.4276
	mix P4S5	17.60556*	.56138	.000	16.0846	19.1265
mix P4S3	single P4	-11.90444*	.56138	.000	-13.4254	-10.3835
	mix P4S1	-6.90667*	.56138	.000	-8.4276	-5.3857
	mix P4S5	10.69889*	.56138	.000	9.1779	12.2199
mix P4S5	single P4	-22.60333*	.56138	.000	-24.1243	-21.0824
	mix P4S1	-17.60556*	.56138	.000	-19.1265	-16.0846
	mix P4S3	-10.69889*	.56138	.000	-12.2199	-9.1779

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(b) Polysorbate 80 ความเข้มข้น 6%

ANOVA

sizeDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3048.183	3	1016.061	964.478	.000
Within Groups	33.711	32	1.053		
Total	3081.895	35			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: sizeDay0

Tukey HSD

(I) ConcP80	(J) ConcP80	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
single P6	mix P6S1	2.93778*	.48385	.000	1.6269	4.2487
	mix P6S3	13.82889*	.48385	.000	12.5180	15.1398
	mix P6S5	23.19667*	.48385	.000	21.8858	24.5076
mix P6S1	single P6	-2.93778*	.48385	.000	-4.2487	-1.6269
	mix P6S3	10.89111*	.48385	.000	9.5802	12.2020
	mix P6S5	20.25889*	.48385	.000	18.9480	21.5698
mix P6S3	single P6	-13.82889*	.48385	.000	-15.1398	-12.5180
	mix P6S1	-10.89111*	.48385	.000	-12.2020	-9.5802
	mix P6S5	9.36778*	.48385	.000	8.0569	10.6787
mix P6S5	single P6	-23.19667*	.48385	.000	-24.5076	-21.8858
	mix P6S1	-20.25889*	.48385	.000	-21.5698	-18.9480
	mix P6S3	-9.36778*	.48385	.000	-10.6787	-8.0569

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(c) Polysorbate 80 ความเข้มข้น 8%

ANOVA

sizeDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3108.453	3	1036.151	695.090	.000
Within Groups	47.701	32	1.491		
Total	3156.155	35			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: sizeDay0

Tukey HSD

(I) ConcP80	(J) ConcP80	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
single P8	mix P8S1	5.94000*	.57555	.000	4.3806	7.4994
	mix P8S3	16.26778*	.57555	.000	14.7084	17.8272
	mix P8S5	24.13000*	.57555	.000	22.5706	25.6894
mix P8S1	single P8	-5.94000*	.57555	.000	-7.4994	-4.3806
	mix P8S3	10.32778*	.57555	.000	8.7684	11.8872
	mix P8S5	18.19000*	.57555	.000	16.6306	19.7494
mix P8S3	single P8	-16.26778*	.57555	.000	-17.8272	-14.7084
	mix P8S1	-10.32778*	.57555	.000	-11.8872	-8.7684
	mix P8S5	7.86222*	.57555	.000	6.3028	9.4216
mix P8S5	single P8	-24.13000*	.57555	.000	-25.6894	-22.5706
	mix P8S1	-18.19000*	.57555	.000	-19.7494	-16.6306
	mix P8S3	-7.86222*	.57555	.000	-9.4216	-6.3028

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(d) Sodium caseinate ความเข้มข้น 1%

Test of Homogeneity of Variances

sizeDay0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.420	3	32	.010

ANOVA

sizeDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35003.086	3	11667.695	5669.187	.000
Within Groups	65.859	32	2.058		
Total	35068.945	35			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: sizeDay0

Dunnnett T3

(I) ConcSC	(J) ConcSC	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
single SC1%	Mix P4S1	62.53111*	.82543	.000	59.8906	65.1716
	Mix P6S1	70.24556*	.86006	.000	67.5612	72.9299
	Mix P8S1	79.30556*	.83811	.000	76.6511	81.9600
Mix P4S1	single SC1%	-62.53111*	.82543	.000	-65.1716	-59.8906
	Mix P6S1	7.71444*	.46074	.000	6.3335	9.0954
	Mix P8S1	16.77444*	.41833	.000	15.5300	18.0189
Mix P6S1	single SC1%	-70.24556*	.86006	.000	-72.9299	-67.5612
	Mix P4S1	-7.71444*	.46074	.000	-9.0954	-6.3335
	Mix P8S1	9.06000*	.48308	.000	7.6210	10.4990
Mix P8S1	single SC1%	-79.30556*	.83811	.000	-81.9600	-76.6511
	Mix P4S1	-16.77444*	.41833	.000	-18.0189	-15.5300
	Mix P6S1	-9.06000*	.48308	.000	-10.4990	-7.6210

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(e) Sodium caseinate ความเข้มข้น 3%

Test of Homogeneity of Variances

sizeDay0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.491	3	32	.236

ANOVA

sizeDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	46285.097	3	15428.366	3140.372	.000
Within Groups	157.213	32	4.913		
Total	46442.310	35			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: sizeDay0

Tukey HSD

(I) ConcSC	(J) ConcSC	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
single SC3%	Mix P4S3	70.92667*	1.04487	.000	68.0957	73.7576
	Mix P6S3	81.39556*	1.04487	.000	78.5646	84.2265
	Mix P8S3	91.12222*	1.04487	.000	88.2913	93.9532
Mix P4S3	single SC3%	-70.92667*	1.04487	.000	-73.7576	-68.0957
	Mix P6S3	10.46889*	1.04487	.000	7.6380	13.2998
	Mix P8S3	20.19556*	1.04487	.000	17.3646	23.0265
Mix P6S3	single SC3%	-81.39556*	1.04487	.000	-84.2265	-78.5646
	Mix P4S3	-10.46889*	1.04487	.000	-13.2998	-7.6380
	Mix P8S3	9.72667*	1.04487	.000	6.8957	12.5576
Mix P8S3	single SC3%	-91.12222*	1.04487	.000	-93.9532	-88.2913
	Mix P4S3	-20.19556*	1.04487	.000	-23.0265	-17.3646
	Mix P6S3	-9.72667*	1.04487	.000	-12.5576	-6.8957

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(f) sodium caseinate ความเข้มข้น 5%

Test of Homogeneity of Variances

sizeDay0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.551	3	32	.009

ANOVA

sizeDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54122.698	3	18040.899	8729.162	.000
Within Groups	66.136	32	2.067		
Total	54188.834	35			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: sizeDay0

Dunnnett T3

(I) ConcSC	(J) ConcSC	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
single SC5%	Mix P4S5	79.15889*	.87249	.000	76.3783	81.9395
	Mix P6S5	89.52667*	.86408	.000	86.7545	92.2988
	Mix P8S5	96.51778*	.86385	.000	93.7459	99.2897
Mix P4S5	single SC5%	-79.15889*	.87249	.000	-81.9395	-76.3783
	Mix P6S5	10.36778*	.41510	.000	9.1341	11.6015
	Mix P8S5	17.35889*	.41464	.000	16.1265	18.5913
Mix P6S5	single SC5%	-89.52667*	.86408	.000	-92.2988	-86.7545
	Mix P4S5	-10.36778*	.41510	.000	-11.6015	-9.1341
	Mix P8S5	6.99111*	.39663	.000	5.8133	8.1689
Mix P8S5	single SC5%	-96.51778*	.86385	.000	-99.2897	-93.7459
	Mix P4S5	-17.35889*	.41464	.000	-18.5913	-16.1265
	Mix P6S5	-6.99111*	.39663	.000	-8.1689	-5.8133

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางที่ ค-4 แสดงการวิเคราะห์ student's T-test เพื่อศึกษาผลของชนิดสารทำอิมัลชันเดี่ยว polysorbate 80 และ sodium caseinate ต่อค่า Zeta potential (mV) ของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า

Group Statistics

	TypeEA	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ZetaDay0	P80	27	-17.478	4.6096	.8871
	SC	27	-51.011	1.1969	.2303

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	t-test for Equality of Means			
							Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
							Lower	Upper		
ZetaDay0	Equal variances assumed	84.658	.000	36.587	52	.000	33.5333	.9165	31.6942	35.3725
	Equal variances not assumed			36.587	29.490	.000	33.5333	.9165	31.6601	35.4065

ตารางที่ ค-5 แสดงการวิเคราะห์ One-way ANOVA และ Tukey's multiple comparison เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นสารทำอิมัลชันเดี่ยว polysorbate 80 และ sodium caseinate แยกตามชนิดของสารทำอิมัลชันต่อค่า Zeta potential (mV) ของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล้า

(a) polysorbate 80

Test of Homogeneity of Variances

ZetaDay0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.265	2	24	.006

ANOVA

ZetaDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	438.162	2	219.081	45.999	.000
Within Groups	114.304	24	4.763		
Total	552.467	26			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ZetaDay0

Dunnnett T3

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
SingleType3Conc P80 4%	SingleType3Conc P80 6%	-6.8111*	1.2401	.000	-10.134	-3.488
	P80 8%	-9.5889*	.7559	.000	-11.747	-7.431
P80 6%	P80 4%	6.8111*	1.2401	.000	3.488	10.134
	P80 8%	-2.7778	1.0324	.069	-5.771	.216
P80 8%	P80 4%	9.5889*	.7559	.000	7.431	11.747
	P80 6%	2.7778	1.0324	.069	-.216	5.771

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(b) sodium caseinate

Test of Homogeneity of Variances

ZetaDay0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.417	2	24	.023

ANOVA

ZetaDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.460	2	.730	.490	.619
Within Groups	35.787	24	1.491		
Total	37.247	26			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ZetaDay0

Dunnnett T3

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
SingleType6Conc	SC 3%	-.2333	.6559	.978	-2.042	1.576
	SC 5%	-.5667	.6423	.762	-2.355	1.222
SC 3%	SC1%	.2333	.6559	.978	-1.576	2.042
	SC 5%	-.3333	.3889	.776	-1.366	.699
SC 5%	SC1%	.5667	.6423	.762	-1.222	2.355
	SC 3%	.3333	.3889	.776	-.699	1.366

ตารางที่ ค-6 แสดงการวิเคราะห์ student's T-test เพื่อศึกษาผลของชนิดสารทำอิมัลชันเดี่ยว polysorbate 80 และ sodium caseinate ต่อค่าความหนืด (cP) ของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า

Group Statistics

TypeEA	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VisDay0 P80	9	3.2822	.33263	.11088
SC	9	4.9133	1.29813	.43271

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
VisDay0 Equal variances assumed	11.631	.004	-3.652	16	.002	-1.63111	.44669	-2.57805	-.68417
Equal variances not assumed			-3.652	9.046	.005	-1.63111	.44669	-2.64081	-.62141

ตารางที่ ค-7 แสดงการวิเคราะห์ One-way ANOVA เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นสารทำอิมัลชันเดี่ยว (a) polysorbate 80 และ (b) sodium caseinate ต่อค่าความหนืด (cP) แยกตามชนิดของสารทำอิมัลชัน ของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า

(a) polysorbate 80

Test of Homogeneity of Variances

VisDay0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.749	2	6	.010

ANOVA

VisDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.841	2	.420	56.629	.000
Within Groups	.045	6	.007		
Total	.885	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VisDay0

Dunnett T3

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
SingleType6Conc P80 4%	SingleType6Conc P80 6%	-.42000	.08360	.077	-.9482	.1082
	SingleType6Conc P80 8%	-.74667*	.08609	.020	-1.2300	-.2633
P80 6%	P80 4%	.42000	.08360	.077	-.1082	.9482
	P80 8%	-.32667*	.02108	.007	-.4533	-.2000
P80 8%	P80 4%	.74667*	.08609	.020	.2633	1.2300
	P80 6%	.32667*	.02108	.007	.2000	.4533

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(b) sodium caseinate

Test of Homogeneity of Variances

VisDay0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.941	2	6	.012

ANOVA

VisDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.446	2	6.723	1133.056	.000
Within Groups	.036	6	.006		
Total	13.481	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VisDay0

Dunnnett T3

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
SingleType6Conc	SC 3%	-1.74000*	.07616	.003	-2.2050	-1.2750
	SC 5%	-2.98000*	.01528	.000	-3.0378	-2.9222
SC 3%	SC1%	1.74000*	.07616	.003	1.2750	2.2050
	SC 5%	-1.24000*	.07638	.007	-1.7008	-.7792
SC 5%	SC1%	2.98000*	.01528	.000	2.9222	3.0378
	SC 3%	1.24000*	.07638	.007	.7792	1.7008

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางที่ ค-8 แสดงการวิเคราะห์ student's T-test เพื่อศึกษาผลของชนิดสารทำอิมัลชันเดี่ยว polisorbate 80 และ sodium caseinate ต่อค่า pH ของตำรับ นาโนอิมัลชันแบบเปล้า

Group Statistics

TypeEA	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
pHDay0 P80	9	7.0333	.07681	.02560
SC	9	6.9133	.38762	.12921

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means								
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference			
pHDay0 Equal variances assumed	6.102	.025	.911	16	.376	.12000	.13172	Lower	-.15923	Upper	.39923
Equal variances not assumed			.911	8.627	.387	.12000	.13172	Lower	-.17994	Upper	.41994

ตารางที่ ค-9 แสดงการวิเคราะห์ One-way ANOVA เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นสารทำอิมัลชันเดี่ยว (a) polysorbate 80 และ (b) sodium caseinate ต่อค่า pH แยกตามชนิดของสารทำอิมัลชัน ของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า

(a) polysorbate 80

Test of Homogeneity of Variances

pHDay0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.190	2	6	.015



ANOVA

pHDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.034	2	.017	7.892	.021
Within Groups	.013	6	.002		
Total	.047	8			



Multiple Comparisons

Dependent Variable: pHDay0

Dunnnett T3

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
SingleType6Conc P80 4%	SingleType6Conc P80 6%	.09000	.04643	.338	-.1405	.3205
	P80 8%	-.06000	.01700	.134	-.1593	.0393
P80 6%	P80 4%	-.09000	.04643	.338	-.3205	.1405
	P80 8%	-.15000	.04346	.151	-.4220	.1220
P80 8%	P80 4%	.06000	.01700	.134	-.0393	.1593
	P80 6%	.15000	.04346	.151	-.1220	.4220

(b) sodium caseinate

Test of Homogeneity of Variances

pHDay0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.336	2	6	.331

ANOVA

pHDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.310	2	.155	1.045	.408
Within Groups	.892	6	.149		
Total	1.202	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: pHDay0

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
SingleType3Conc SC1%	SingleType3Conc SC 3%	-.09667	.31474	.950	-1.0624	.8690
	SingleType3Conc SC 5%	.33667	.31474	.565	-.6290	1.3024
SC 3%	SingleType3Conc SC1%	.09667	.31474	.950	-.8690	1.0624
	SingleType3Conc SC 5%	.43333	.31474	.409	-.5324	1.3990
SC 5%	SingleType3Conc SC1%	-.33667	.31474	.565	-1.3024	.6290
	SingleType3Conc SC 3%	-.43333	.31474	.409	-1.3990	.5324

ตารางที่ ค-10 แสดงการวิเคราะห์ Two-way ANOVA เพื่อศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของสารทำอิมัลชันผสมของ polysorbate 80 และ sodium caseinate ต่อขนาดอนุภาค (nm) ของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล้า

Tests of Between-Subjects Effects

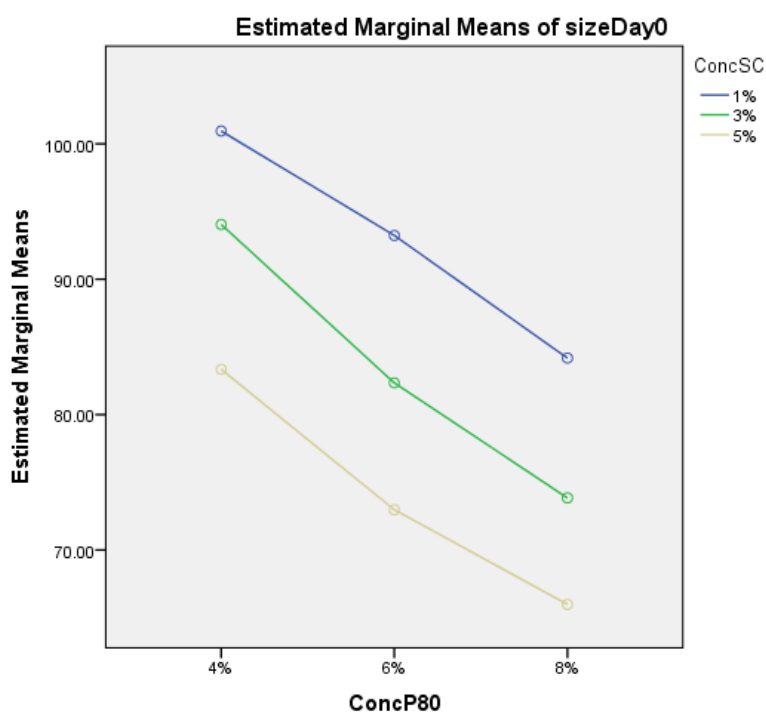
Dependent Variable: sizeDay0

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	1474652.744	1	1474652.744	578.784	.000
	Error	7640.887	2.999	2547.848 ^a		
ConcP80	Hypothesis	135874.503	3	45291.501	315.096	.000
	Error	1149.910	8	143.739 ^b		
ConcSC	Hypothesis	7621.386	3	2540.462	17.674	.001
	Error	1149.910	8	143.739 ^b		
ConcP80 * ConcSC	Hypothesis	1149.910	8	143.739	69.621	.000
	Error	247.750	120	2.065 ^c		

a. $1.003 \text{ MS(ConcSC)} - .003 \text{ MS(ConcP80 * ConcSC)}$

b. $\text{MS(ConcP80 * ConcSC)}$

c. MS(Error)



ตารางที่ ค-11 แสดงการวิเคราะห์ One-way ANOVA และ Tukey's multiple comparison เพื่อศึกษาผลของสารทำอิมัลชันผสม polysorbate 80 ร่วมกับ sodium caseinate ทุกสูตรตำรับต่อขนาดอนุภาค (nm) ของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล้า

ANOVA

sizeDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9205.951	8	1150.744	942.498	.000
Within Groups	87.908	72	1.221		
Total	9293.859	80			



Multiple Comparisons

Dependent Variable: sizeDay0

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
MixEA9Conc P4S1	MixEA9Conc P4S3	6.90667*	.52089	.000	5.2409	8.5725
	P4S5	17.60556*	.52089	.000	15.9397	19.2714
	P6S1	7.71444*	.52089	.000	6.0486	9.3803
	P6S3	18.60556*	.52089	.000	16.9397	20.2714
	P6S5	27.97333*	.52089	.000	26.3075	29.6391
	P8S1	16.77444*	.52089	.000	15.1086	18.4403
	P8S3	27.10222*	.52089	.000	25.4364	28.7680
	P8S5	34.96444*	.52089	.000	33.2986	36.6303
P4S3	P4S1	-6.90667*	.52089	.000	-8.5725	-5.2409
	P4S5	10.69889*	.52089	.000	9.0331	12.3647
	P6S1	.80778	.52089	.827	-.8580	2.4736
	P6S3	11.69889*	.52089	.000	10.0331	13.3647
	P6S5	21.06667*	.52089	.000	19.4009	22.7325
	P8S1	9.86778*	.52089	.000	8.2020	11.5336

	P8S3	20.19556*	.52089	.000	18.5297	21.8614
	P8S5	28.05778*	.52089	.000	26.3920	29.7236
P4S5	P4S1	-17.60556*	.52089	.000	-19.2714	-15.9397
	P4S3	-10.69889*	.52089	.000	-12.3647	-9.0331
	P6S1	-9.89111*	.52089	.000	-11.5569	-8.2253
	P6S3	1.00000	.52089	.603	-.6658	2.6658
	P6S5	10.36778*	.52089	.000	8.7020	12.0336
	P8S1	-.83111	.52089	.804	-2.4969	.8347
	P8S3	9.49667*	.52089	.000	7.8309	11.1625
	P8S5	17.35889*	.52089	.000	15.6931	19.0247
P6S1	P4S1	-7.71444*	.52089	.000	-9.3803	-6.0486
	P4S3	-.80778	.52089	.827	-2.4736	.8580
	P4S5	9.89111*	.52089	.000	8.2253	11.5569
	P6S3	10.89111*	.52089	.000	9.2253	12.5569
	P6S5	20.25889*	.52089	.000	18.5931	21.9247
	P8S1	9.06000*	.52089	.000	7.3942	10.7258
	P8S3	19.38778*	.52089	.000	17.7220	21.0536
	P8S5	27.25000*	.52089	.000	25.5842	28.9158
P6S3	P4S1	-18.60556*	.52089	.000	-20.2714	-16.9397
	P4S3	-11.69889*	.52089	.000	-13.3647	-10.0331
	P4S5	-1.00000	.52089	.603	-2.6658	.6658
	P6S1	-10.89111*	.52089	.000	-12.5569	-9.2253
	P6S5	9.36778*	.52089	.000	7.7020	11.0336
	P8S1	-1.83111*	.52089	.021	-3.4969	-.1653
	P8S3	8.49667*	.52089	.000	6.8309	10.1625
	P8S5	16.35889*	.52089	.000	14.6931	18.0247
P6S5	P4S1	-27.97333*	.52089	.000	-29.6391	-26.3075
	P4S3	-21.06667*	.52089	.000	-22.7325	-19.4009
	P4S5	-10.36778*	.52089	.000	-12.0336	-8.7020
	P6S1	-20.25889*	.52089	.000	-21.9247	-18.5931
	P6S3	-9.36778*	.52089	.000	-11.0336	-7.7020
	P8S1	-11.19889*	.52089	.000	-12.8647	-9.5331
	P8S3	-.87111	.52089	.761	-2.5369	.7947

	P8S5	6.99111*	.52089	.000	5.3253	8.6569
P8S1	P4S1	-16.77444*	.52089	.000	-18.4403	-15.1086
	P4S3	-9.86778*	.52089	.000	-11.5336	-8.2020
	P4S5	.83111	.52089	.804	-.8347	2.4969
	P6S1	-9.06000*	.52089	.000	-10.7258	-7.3942
	P6S3	1.83111*	.52089	.021	.1653	3.4969
	P6S5	11.19889*	.52089	.000	9.5331	12.8647
	P8S3	10.32778*	.52089	.000	8.6620	11.9936
	P8S5	18.19000*	.52089	.000	16.5242	19.8558
P8S3	P4S1	-27.10222*	.52089	.000	-28.7680	-25.4364
	P4S3	-20.19556*	.52089	.000	-21.8614	-18.5297
	P4S5	-9.49667*	.52089	.000	-11.1625	-7.8309
	P6S1	-19.38778*	.52089	.000	-21.0536	-17.7220
	P6S3	-8.49667*	.52089	.000	-10.1625	-6.8309
	P6S5	.87111	.52089	.761	-.7947	2.5369
	P8S1	-10.32778*	.52089	.000	-11.9936	-8.6620
	P8S5	7.86222*	.52089	.000	6.1964	9.5280
P8S5	P4S1	-34.96444*	.52089	.000	-36.6303	-33.2986
	P4S3	-28.05778*	.52089	.000	-29.7236	-26.3920
	P4S5	-17.35889*	.52089	.000	-19.0247	-15.6931
	P6S1	-27.25000*	.52089	.000	-28.9158	-25.5842
	P6S3	-16.35889*	.52089	.000	-18.0247	-14.6931
	P6S5	-6.99111*	.52089	.000	-8.6569	-5.3253
	P8S1	-18.19000*	.52089	.000	-19.8558	-16.5242
	P8S3	-7.86222*	.52089	.000	-9.5280	-6.1964

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางที่ ค-12 แสดงการวิเคราะห์ One-way ANOVA เพื่อศึกษาผลของสารทำอิมัลชันผสมทุกสูตร
 สำหรับ ค่า zeta potential (mV) ของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่า

ANOVA

ZetaDay0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	428.993	8	53.624	1.458	.188
Within Groups	2648.246	72	36.781		
Total	3077.240	80			

1.2 ความคงตัวทางกายภาพ

ตารางที่ ค-13 แสดงผลการวิเคราะห์ Paired t-test (a) ขนาดอนุภาค (nm) (b) PDI (c) Zeta potential (mV) (d) pH และ (e) ความหนืด (cP) ของตำรับนาโนอิมัลชันแบบเปล่าทุกสูตร
 เปรียบเทียบก่อนและหลังการศึกษาความคงตัวทางกายภาพภายใต้สภาวะ heating-cooling จำนวน
 6 รอบ

(a) ขนาดอนุภาค (nm)

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 P4 SizeD0 & P4 SizeC6	9	.444	.231
Pair 2 P6 SizeD0 & P6 SizeC6	9	.324	.396
Pair 3 P8 SizeD0 & P8 SizeC6	9	.417	.265
Pair 4 S1 SizeD0 & S1 SizeC6	9	.451	.223
Pair 5 S3 SizeD0 & S3 SizeC6	9	.804	.009
Pair 6 S5 SizeD0 & S5 SizeC6	9	.699	.036
Pair 7 P4S1 SizeD0 & P4S1 SizeC6	9	.444	.231
Pair 10 P6S1 SizeD0 & P6S1 SizeC6	9	.556	.120
Pair 13 P8S1 SizeD0 & P8S1 SizeC6	9	-.523	.148

(b) PDI

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	P4 PDI D0 & P4 PDI C6	9	-.014	.972
Pair 2	P6 PDI D0 & P6 PDI C6	9	.218	.573
Pair 3	P8 PDI D0 & P8 PDI C6	9	-.032	.934
Pair 4	S1 PDI D0 & S1 PDI C6	9	-.418	.263
Pair 5	S3 PDI D0 & S3 PDI C6	9	-.420	.260
Pair 6	S5 PDI D0 & S5 PDI C6	9	.163	.676
Pair 7	P4S1 PDI D0 & P4S1 PDI C6	9	-.498	.172
Pair 10	P6S1 PDI D0 & P6S1 PDI C6	9	.086	.826
Pair 13	P8S1 PDI D0 & P8S1 PDI C6	9	.204	.599

(c) Zeta potential (mV)

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	P4 Zeta D0 & P4 Zeta C6	9	.015	.970
Pair 2	P6 Zeta D0 & P6 Zeta C6	9	.719	.029
Pair 3	P8 Zeta D0 & P8 Zeta C6	9	.321	.399
Pair 4	S1 Zeta D0 & S1 Zeta C6	9	-.273	.478
Pair 5	S3 Zeta D0 & S3 Zeta C6	9	-.598	.089
Pair 6	S5 Zeta D0 & S5 Zeta C6	9	.234	.544
Pair 7	P4S1 Zeta D0 & P4S1 Zeta C6	9	.199	.607
Pair 10	P6S1 Zeta D0 & P6S1 Zeta C6	9	.518	.153
Pair 13	P8S1 Zeta D0 & P8S1 Zeta C6	9	.155	.691

(d) pH

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	P4 pH D0 & P4 pH C6	3	.896	.293
Pair 2	P6 pH D0 & P6 pH C6	3	-.891	.300
Pair 3	P8 pH D0 & P8 pH C6	3	.998	.037
Pair 4	S1 pH D0 & S1 pH C6	3	.361	.765
Pair 5	S3 pH D0 & S3 pH C6	3	-.796	.414
Pair 6	S5 pH D0 & S5 pH C6	3	.919	.257
Pair 7	P4S1 pH D0 & P4S1 pH C6	3	.161	.897
Pair 10	P6S1 pH D0 & P6S1 pH C6	3	.146	.907
Pair 13	P8S1 pH D0 & P8S1 pH C6	3	.986	.107

(e) ความหนืด (cP)

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	P4 Vis D0 & P4 Vis C6	3	.481	.681
Pair 2	P6 Vis D0 & P6 Vis C6	3	.606	.585
Pair 3	P8 Vis D0 & P8 Vis C6	3	-.971	.154
Pair 4	S1 Vis D0 & S1 Vis C6	3	-.837	.369
Pair 5	S3 Vis D0 & S3 Vis C6	3	.372	.757
Pair 6	S5 Vis D0 & S5 Vis C6	3	.837	.369
Pair 7	P4S1 Vis D0 & P4S1 Vis C6	3	.748	.462
Pair 10	P6S1 Vis D0 & P6S1 Vis C6	3	-.500	.667
Pair 13	P8S1 Vis D0 & P8S1 Vis C6	3	.490	.674

2. ค่ารับนาโนอิมัลชันที่บรรจุ astaxanthin

ตารางที่ ค-14 แสดงการวิเคราะห์ Paired t-test เปรียบเทียบความเข้มข้น astaxanthin ($\mu\text{g/ml}$) ในน้ำมันรำข้าวก่อนและหลังการเตรียมด้วย microfluidizer

Paired Samples Test

	Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower				Upper
Pair 1 Axt before micro - Axt after micro	16.325333	6.407664	3.699467	.407813	32.242854	4.413	.048	



(b) PDI

Paired Samples Test

	Paired Differences							t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		Lower	Upper			
				Lower	Upper					
Pair 1	day1 PDI 25cPS80 - day100 PDI 25cPS80	.022591	.013043	-.058785	.053451	-.204	2	.857		
Pair 2	day1 PDI 25cSC - day100 PDI 25cSC	.014572	.008413	-.031865	.040531	.515	2	.658		
Pair 3	day1 PDI 25cPS80SC - day100 PDI 25cPS80SC	.041501	.023961	-.092761	.113428	.431	2	.708		
Pair 4	day1 PDI 5cPS80 - day100 PDI 5cSC	.045181	.026085	-.022569	.201903	3.437	2	.075		
Pair 5	day1 PDI 5cSC - day100 PDI 5cSC	.047318	.027319	-.074545	.160545	1.574	2	.256		
Pair 6	day1 PDI 5cPS80SC - day100 PDI 5cPS80SC	.023116	.013346	-.060756	.054089	-.250	2	.826		

(c) Zeta potential (mV)

Paired Samples Test

	Paired Differences							t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		Lower	Upper			
				Lower	Upper					
Pair 1 day1 Zeta 25cPS80 - day100 Zeta 25cPS80	3.133333	1.814754	1.047749	-1.374766	7.641433	2.991	2	.096		
Pair 2 day1 Zeta 25cSC - day100 Zeta 25cSC	-1.333333	4.816984	2.781087	-13.299385	10.632718	-4.79	2	.679		
Pair 3 day1 Zeta 25cPS80SC - day100 Zeta 25cPS80SC	7.800000	2.535744	1.464013	1.500862	14.099138	5.328	2	.033		
Pair 4 day1 Zeta 5cPS80 - day100 Zeta 5cPS80	3.600000	1.352775	.781025	.239521	6.960479	4.609	2	.044		
Pair 5 day1 Zeta 5cSC - day100 Zeta 5cSC	-.600000	.624500	.360555	-2.151344	.951344	-1.664	2	.238		
Pair 6 day1 Zeta 5cPS80SC - day100 Zeta 5cPS80SC	-2.433333	4.301550	2.483501	-13.118976	8.252310	-9.80	2	.431		

(d) pH

Paired Samples Test

	Paired Differences							t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		Lower	Upper			
				Lower	Upper					
Pair 1 day1 pH 25cPS80 - day30 pH 25cPS80	.150000	.086603	.050000	-.065133	.365133	3.000	2	.095		
Pair 2 day1 pH 25cSC - day30 pH 25cSC	.026667	.037859	.021858	-.067381	.120715	1.220	2	.347		
Pair 3 day1 pH 25cPS80SC - day30 pH 25cPS80SC	.240000	.026458	.015275	.174276	.305724	15.712	2	.004		
Pair 4 day1 pH 5cPS80 - day30 pH 5cPS80	.083333	.107858	.062272	-.184601	.351267	1.338	2	.313		
Pair 5 day1 pH 5cSC - day30 pH 5cSC	-.183333	.049329	.028480	-.305873	-.060794	-6.437	2	.023		
Pair 6 day1 pH 5cPS80SC - day30 pH 5cPS80SC	-.106667	.005774	.003333	-.121009	-.092324	-32.000	2	.001		

(e) ความหนัก (cP)

Paired Samples Test

	Paired Differences							t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		Upper				
				Lower	Upper					
Pair 1 day1 Vis 25cPS80 - day30 Vis 25cPS80	-.013333	.206478	.119210	-.526254	.499587		-.112	2	.921	
Pair 2 day1 Vis 25cSC - day30 Vis 25cSC	-.096667	.101160	.058405	-.347962	.154629		-1.655	2	.240	
Pair 3 day1 Vis 25cPS80SC - day30 Vis 25cPS80SC	-.050000	.095394	.055076	-.286972	.186972		-.908	2	.460	
Pair 4 day1 Vis 5cPS80 - day30 Vis 5cPS80	-.430000	.026458	.015275	-.495724	-.364276		-28.150	2	.001	
Pair 5 day1 Vis 5cSC - day30 Vis 5cSC	-.426667	.025166	.014530	-.489183	-.364151		-29.365	2	.001	
Pair 6 day1 Vis 5cPS80SC - day30 Vis 5cPS80SC	-.190000	.043589	.025166	-.298281	-.081719		-7.550	2	.017	

2.2 ความคงตัวของเคมี

ตารางที่ ค-16 แสดงการวิเคราะห์ One way ANOVA และ Tukey's multiple comparison เพื่อเปรียบเทียบ % astaxanthin remaining ในสูตรตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชัน (a) polysorbate 80 (b) sodium caseinate (c) สารทำอิมัลชันผสม polysorbate 80+sodium caseinate และ (d) astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 25 °C ณ เวลาต่างๆ

(a) สารทำอิมัลชันเดี่ยว polysorbate 80 ที่อุณหภูมิ 25 °C

ANOVA

Axt25cPS80

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17064.062	8	2133.008	526.426	.000
Within Groups	72.934	18	4.052		
Total	17136.995	26			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Axt25cPS80

Tukey HSD

(I) day	(J) day	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Day 0	Day 3	56.950100*	1.643547	.000	51.19134	62.70886
	Day 6	61.443533*	1.643547	.000	55.68477	67.20229
	Day 9	62.712200*	1.643547	.000	56.95344	68.47096
	Day 14	69.717433*	1.643547	.000	63.95867	75.47619
	Day 21	71.626833*	1.643547	.000	65.86807	77.38559
	Day 29	75.821067*	1.643547	.000	70.06231	81.57983
	Day 64	82.890167*	1.643547	.000	77.13141	88.64893
	Day 100	94.768367*	1.643547	.000	89.00961	100.52713
Day 3	Day 0	-56.950100*	1.643547	.000	-62.70886	-51.19134

	Day 6	4.493433	1.643547	.203	-1.26533	10.25219
	Day 9	5.762100*	1.643547	.050	.00334	11.52086
	Day 14	12.767333*	1.643547	.000	7.00857	18.52609
	Day 21	14.676733*	1.643547	.000	8.91797	20.43549
	Day 29	18.870967*	1.643547	.000	13.11221	24.62973
	Day 64	25.940067*	1.643547	.000	20.18131	31.69883
	Day 100	37.818267*	1.643547	.000	32.05951	43.57703
Day 6	Day 0	-61.443533*	1.643547	.000	-67.20229	-55.68477
	Day 3	-4.493433	1.643547	.203	-10.25219	1.26533
	Day 9	1.268667	1.643547	.996	-4.49009	7.02743
	Day 14	8.273900*	1.643547	.002	2.51514	14.03266
	Day 21	10.183300*	1.643547	.000	4.42454	15.94206
	Day 29	14.377533*	1.643547	.000	8.61877	20.13629
	Day 64	21.446633*	1.643547	.000	15.68787	27.20539
	Day 100	33.324833*	1.643547	.000	27.56607	39.08359
Day 9	Day 0	-62.712200*	1.643547	.000	-68.47096	-56.95344
	Day 3	-5.762100*	1.643547	.050	-11.52086	-.00334
	Day 6	-1.268667	1.643547	.996	-7.02743	4.49009
	Day 14	7.005233*	1.643547	.011	1.24647	12.76399
	Day 21	8.914633*	1.643547	.001	3.15587	14.67339
	Day 29	13.108867*	1.643547	.000	7.35011	18.86763
	Day 64	20.177967*	1.643547	.000	14.41921	25.93673
	Day 100	32.056167*	1.643547	.000	26.29741	37.81493
Day 14	Day 0	-69.717433*	1.643547	.000	-75.47619	-63.95867
	Day 3	-12.767333*	1.643547	.000	-18.52609	-7.00857
	Day 6	-8.273900*	1.643547	.002	-14.03266	-2.51514
	Day 9	-7.005233*	1.643547	.011	-12.76399	-1.24647
	Day 21	1.909400	1.643547	.955	-3.84936	7.66816
	Day 29	6.103633*	1.643547	.033	.34487	11.86239
	Day 64	13.172733*	1.643547	.000	7.41397	18.93149
	Day 100	25.050933*	1.643547	.000	19.29217	30.80969
Day 21	Day 0	-71.626833*	1.643547	.000	-77.38559	-65.86807
	Day 3	-14.676733*	1.643547	.000	-20.43549	-8.91797

	Day 6	-10.183300*	1.643547	.000	-15.94206	-4.42454
	Day 9	-8.914633*	1.643547	.001	-14.67339	-3.15587
	Day 14	-1.909400	1.643547	.955	-7.66816	3.84936
	Day 29	4.194233	1.643547	.272	-1.56453	9.95299
	Day 64	11.263333*	1.643547	.000	5.50457	17.02209
	Day 100	23.141533*	1.643547	.000	17.38277	28.90029
Day 29	Day 0	-75.821067*	1.643547	.000	-81.57983	-70.06231
	Day 3	-18.870967*	1.643547	.000	-24.62973	-13.11221
	Day 6	-14.377533*	1.643547	.000	-20.13629	-8.61877
	Day 9	-13.108867*	1.643547	.000	-18.86763	-7.35011
	Day 14	-6.103633*	1.643547	.033	-11.86239	-.34487
	Day 21	-4.194233	1.643547	.272	-9.95299	1.56453
	Day 64	7.069100*	1.643547	.010	1.31034	12.82786
	Day 100	18.947300*	1.643547	.000	13.18854	24.70606
Day 64	Day 0	-82.890167*	1.643547	.000	-88.64893	-77.13141
	Day 3	-25.940067*	1.643547	.000	-31.69883	-20.18131
	Day 6	-21.446633*	1.643547	.000	-27.20539	-15.68787
	Day 9	-20.177967*	1.643547	.000	-25.93673	-14.41921
	Day 14	-13.172733*	1.643547	.000	-18.93149	-7.41397
	Day 21	-11.263333*	1.643547	.000	-17.02209	-5.50457
	Day 29	-7.069100*	1.643547	.010	-12.82786	-1.31034
	Day 100	11.878200*	1.643547	.000	6.11944	17.63696
Day 100	Day 0	-94.768367*	1.643547	.000	-100.52713	-89.00961
	Day 3	-37.818267*	1.643547	.000	-43.57703	-32.05951
	Day 6	-33.324833*	1.643547	.000	-39.08359	-27.56607
	Day 9	-32.056167*	1.643547	.000	-37.81493	-26.29741
	Day 14	-25.050933*	1.643547	.000	-30.80969	-19.29217
	Day 21	-23.141533*	1.643547	.000	-28.90029	-17.38277
	Day 29	-18.947300*	1.643547	.000	-24.70606	-13.18854
	Day 64	-11.878200*	1.643547	.000	-17.63696	-6.11944

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(b) สารทำอิมัลชันเดี่ยว sodium caseinate ที่อุณหภูมิ 25 °C

ANOVA

Axt25cSC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15809.192	8	1976.149	1536.941	.000
Within Groups	23.144	18	1.286		
Total	15832.336	26			



Multiple Comparisons

Dependent Variable: Axt25cSC

Tukey HSD

(I) day	(J) day	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Day 0	Day 3	29.130433*	.925839	.000	25.88642	32.37445
	Day 6	41.085767*	.925839	.000	37.84175	44.32978
	Day 9	48.316067*	.925839	.000	45.07205	51.56008
	Day 14	55.762000*	.925839	.000	52.51799	59.00601
	Day 21	65.142333*	.925839	.000	61.89832	68.38635
	Day 29	65.567267*	.925839	.000	62.32325	68.81128
	Day 64	74.751000*	.925839	.000	71.50699	77.99501
	Day 100	83.991867*	.925839	.000	80.74785	87.23588
Day 3	Day 0	-29.130433*	.925839	.000	-32.37445	-25.88642
	Day 6	11.955333*	.925839	.000	8.71132	15.19935
	Day 9	19.185633*	.925839	.000	15.94162	22.42965
	Day 14	26.631567*	.925839	.000	23.38755	29.87558
	Day 21	36.011900*	.925839	.000	32.76789	39.25591
	Day 29	36.436833*	.925839	.000	33.19282	39.68085
	Day 64	45.620567*	.925839	.000	42.37655	48.86458
	Day 100	54.861433*	.925839	.000	51.61742	58.10545
Day 6	Day 0	-41.085767*	.925839	.000	-44.32978	-37.84175

	Day 3	-11.955333*	.925839	.000	-15.19935	-8.71132
	Day 9	7.230300*	.925839	.000	3.98629	10.47431
	Day 14	14.676233*	.925839	.000	11.43222	17.92025
	Day 21	24.056567*	.925839	.000	20.81255	27.30058
	Day 29	24.481500*	.925839	.000	21.23749	27.72551
	Day 64	33.665233*	.925839	.000	30.42122	36.90925
	Day 100	42.906100*	.925839	.000	39.66209	46.15011
Day 9	Day 0	-48.316067*	.925839	.000	-51.56008	-45.07205
	Day 3	-19.185633*	.925839	.000	-22.42965	-15.94162
	Day 6	-7.230300*	.925839	.000	-10.47431	-3.98629
	Day 14	7.445933*	.925839	.000	4.20192	10.68995
	Day 21	16.826267*	.925839	.000	13.58225	20.07028
	Day 29	17.251200*	.925839	.000	14.00719	20.49521
	Day 64	26.434933*	.925839	.000	23.19092	29.67895
	Day 100	35.675800*	.925839	.000	32.43179	38.91981
Day 14	Day 0	-55.762000*	.925839	.000	-59.00601	-52.51799
	Day 3	-26.631567*	.925839	.000	-29.87558	-23.38755
	Day 6	-14.676233*	.925839	.000	-17.92025	-11.43222
	Day 9	-7.445933*	.925839	.000	-10.68995	-4.20192
	Day 21	9.380333*	.925839	.000	6.13632	12.62435
	Day 29	9.805267*	.925839	.000	6.56125	13.04928
	Day 64	18.989000*	.925839	.000	15.74499	22.23301
	Day 100	28.229867*	.925839	.000	24.98585	31.47388
Day 21	Day 0	-65.142333*	.925839	.000	-68.38635	-61.89832
	Day 3	-36.011900*	.925839	.000	-39.25591	-32.76789
	Day 6	-24.056567*	.925839	.000	-27.30058	-20.81255
	Day 9	-16.826267*	.925839	.000	-20.07028	-13.58225
	Day 14	-9.380333*	.925839	.000	-12.62435	-6.13632
	Day 29	.424933	.925839	1.000	-2.81908	3.66895
	Day 64	9.608667*	.925839	.000	6.36465	12.85268
	Day 100	18.849533*	.925839	.000	15.60552	22.09355
Day 29	Day 0	-65.567267*	.925839	.000	-68.81128	-62.32325
	Day 3	-36.436833*	.925839	.000	-39.68085	-33.19282

	Day 6	-24.481500*	.925839	.000	-27.72551	-21.23749
	Day 9	-17.251200*	.925839	.000	-20.49521	-14.00719
	Day 14	-9.805267*	.925839	.000	-13.04928	-6.56125
	Day 21	-.424933	.925839	1.000	-3.66895	2.81908
	Day 64	9.183733*	.925839	.000	5.93972	12.42775
	Day 100	18.424600*	.925839	.000	15.18059	21.66861
Day 64	Day 0	-74.751000*	.925839	.000	-77.99501	-71.50699
	Day 3	-45.620567*	.925839	.000	-48.86458	-42.37655
	Day 6	-33.665233*	.925839	.000	-36.90925	-30.42122
	Day 9	-26.434933*	.925839	.000	-29.67895	-23.19092
	Day 14	-18.989000*	.925839	.000	-22.23301	-15.74499
	Day 21	-9.608667*	.925839	.000	-12.85268	-6.36465
	Day 29	-9.183733*	.925839	.000	-12.42775	-5.93972
	Day 100	9.240867*	.925839	.000	5.99685	12.48488
Day 100	Day 0	-83.991867*	.925839	.000	-87.23588	-80.74785
	Day 3	-54.861433*	.925839	.000	-58.10545	-51.61742
	Day 6	-42.906100*	.925839	.000	-46.15011	-39.66209
	Day 9	-35.675800*	.925839	.000	-38.91981	-32.43179
	Day 14	-28.229867*	.925839	.000	-31.47388	-24.98585
	Day 21	-18.849533*	.925839	.000	-22.09355	-15.60552
	Day 29	-18.424600*	.925839	.000	-21.66861	-15.18059
	Day 64	-9.240867*	.925839	.000	-12.48488	-5.99685

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(c) สารทำอิมัลชันผสม polysorbate 80 และ sodium caseinate ที่อุณหภูมิ 25 °C

ANOVA

Axt25cPS80SC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15030.816	8	1878.852	540.755	.000
Within Groups	62.541	18	3.474		
Total	15093.357	26			



Multiple Comparisons

Dependent Variable: Axt25cPS80SC

Tukey HSD

(I) day	(J) day	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Day 0	Day 3	32.363500*	1.521950	.000	27.03080	37.69620
	Day 6	32.986100*	1.521950	.000	27.65340	38.31880
	Day 9	41.522967*	1.521950	.000	36.19026	46.85567
	Day 14	54.244500*	1.521950	.000	48.91180	59.57720
	Day 21	61.230833*	1.521950	.000	55.89813	66.56354
	Day 29	62.925067*	1.521950	.000	57.59236	68.25777
	Day 64	76.855833*	1.521950	.000	71.52313	82.18854
	Day 100	78.550067*	1.521950	.000	73.21736	83.88277
Day 3	Day 0	-32.363500*	1.521950	.000	-37.69620	-27.03080
	Day 6	.622600	1.521950	1.000	-4.71010	5.95530
	Day 9	9.159467*	1.521950	.000	3.82676	14.49217
	Day 14	21.881000*	1.521950	.000	16.54830	27.21370
	Day 21	28.867333*	1.521950	.000	23.53463	34.20004
	Day 29	30.561567*	1.521950	.000	25.22886	35.89427
	Day 64	44.492333*	1.521950	.000	39.15963	49.82504
	Day 100	46.186567*	1.521950	.000	40.85386	51.51927
Day 6	Day 0	-32.986100*	1.521950	.000	-38.31880	-27.65340
	Day 3	-.622600	1.521950	1.000	-5.95530	4.71010

	Day 9	8.536867*	1.521950	.001	3.20416	13.86957
	Day 14	21.258400*	1.521950	.000	15.92570	26.59110
	Day 21	28.244733*	1.521950	.000	22.91203	33.57744
	Day 29	29.938967*	1.521950	.000	24.60626	35.27167
	Day 64	43.869733*	1.521950	.000	38.53703	49.20244
	Day 100	45.563967*	1.521950	.000	40.23126	50.89667
Day 9	Day 0	-41.522967*	1.521950	.000	-46.85567	-36.19026
	Day 3	-9.159467*	1.521950	.000	-14.49217	-3.82676
	Day 6	-8.536867*	1.521950	.001	-13.86957	-3.20416
	Day 14	12.721533*	1.521950	.000	7.38883	18.05424
	Day 21	19.707867*	1.521950	.000	14.37516	25.04057
	Day 29	21.402100*	1.521950	.000	16.06940	26.73480
	Day 64	35.332867*	1.521950	.000	30.00016	40.66557
	Day 100	37.027100*	1.521950	.000	31.69440	42.35980
Day 14	Day 0	-54.244500*	1.521950	.000	-59.57720	-48.91180
	Day 3	-21.881000*	1.521950	.000	-27.21370	-16.54830
	Day 6	-21.258400*	1.521950	.000	-26.59110	-15.92570
	Day 9	-12.721533*	1.521950	.000	-18.05424	-7.38883
	Day 21	6.986333*	1.521950	.005	1.65363	12.31904
	Day 29	8.680567*	1.521950	.001	3.34786	14.01327
	Day 64	22.611333*	1.521950	.000	17.27863	27.94404
	Day 100	24.305567*	1.521950	.000	18.97286	29.63827
Day 21	Day 0	-61.230833*	1.521950	.000	-66.56354	-55.89813
	Day 3	-28.867333*	1.521950	.000	-34.20004	-23.53463
	Day 6	-28.244733*	1.521950	.000	-33.57744	-22.91203
	Day 9	-19.707867*	1.521950	.000	-25.04057	-14.37516
	Day 14	-6.986333*	1.521950	.005	-12.31904	-1.65363
	Day 29	1.694233	1.521950	.964	-3.63847	7.02694
	Day 64	15.625000*	1.521950	.000	10.29230	20.95770
	Day 100	17.319233*	1.521950	.000	11.98653	22.65194
Day 29	Day 0	-62.925067*	1.521950	.000	-68.25777	-57.59236
	Day 3	-30.561567*	1.521950	.000	-35.89427	-25.22886
	Day 6	-29.938967*	1.521950	.000	-35.27167	-24.60626

	Day 9	-21.402100*	1.521950	.000	-26.73480	-16.06940
	Day 14	-8.680567*	1.521950	.001	-14.01327	-3.34786
	Day 21	-1.694233	1.521950	.964	-7.02694	3.63847
	Day 64	13.930767*	1.521950	.000	8.59806	19.26347
	Day 100	15.625000*	1.521950	.000	10.29230	20.95770
Day 64	Day 0	-76.855833*	1.521950	.000	-82.18854	-71.52313
	Day 3	-44.492333*	1.521950	.000	-49.82504	-39.15963
	Day 6	-43.869733*	1.521950	.000	-49.20244	-38.53703
	Day 9	-35.332867*	1.521950	.000	-40.66557	-30.00016
	Day 14	-22.611333*	1.521950	.000	-27.94404	-17.27863
	Day 21	-15.625000*	1.521950	.000	-20.95770	-10.29230
	Day 29	-13.930767*	1.521950	.000	-19.26347	-8.59806
	Day 100	1.694233	1.521950	.964	-3.63847	7.02694
Day 100	Day 0	-78.550067*	1.521950	.000	-83.88277	-73.21736
	Day 3	-46.186567*	1.521950	.000	-51.51927	-40.85386
	Day 6	-45.563967*	1.521950	.000	-50.89667	-40.23126
	Day 9	-37.027100*	1.521950	.000	-42.35980	-31.69440
	Day 14	-24.305567*	1.521950	.000	-29.63827	-18.97286
	Day 21	-17.319233*	1.521950	.000	-22.65194	-11.98653
	Day 29	-15.625000*	1.521950	.000	-20.95770	-10.29230
	Day 64	-1.694233	1.521950	.964	-7.02694	3.63847

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(d) สารละลาย astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว ที่อุณหภูมิ 25 °C

ANOVA

RBO25c

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14812.898	8	1851.612	410.490	.000
Within Groups	81.193	18	4.511		
Total	14894.091	26			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RBO25c

Tukey HSD

(I) day	(J) day	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Day 0	Day 3	11.491733*	1.734116	.000	5.41563	17.56784
	Day 6	29.783033*	1.734116	.000	23.70693	35.85914
	Day 9	39.053267*	1.734116	.000	32.97716	45.12937
	Day 14	39.946033*	1.734116	.000	33.86993	46.02214
	Day 21	56.649000*	1.734116	.000	50.57290	62.72510
	Day 29	60.967500*	1.734116	.000	54.89140	67.04360
	Day 64	70.414200*	1.734116	.000	64.33810	76.49030
	Day 100	68.441833*	1.734116	.000	62.36573	74.51794
Day 3	Day 0	-11.491733*	1.734116	.000	-17.56784	-5.41563
	Day 6	18.291300*	1.734116	.000	12.21520	24.36740
	Day 9	27.561533*	1.734116	.000	21.48543	33.63764
	Day 14	28.454300*	1.734116	.000	22.37820	34.53040
	Day 21	45.157267*	1.734116	.000	39.08116	51.23337
	Day 29	49.475767*	1.734116	.000	43.39966	55.55187
	Day 64	58.922467*	1.734116	.000	52.84636	64.99857
	Day 100	56.950100*	1.734116	.000	50.87400	63.02620
Day 6	Day 0	-29.783033*	1.734116	.000	-35.85914	-23.70693
	Day 3	-18.291300*	1.734116	.000	-24.36740	-12.21520

	Day 9	9.270233*	1.734116	.001	3.19413	15.34634
	Day 14	10.163000*	1.734116	.000	4.08690	16.23910
	Day 21	26.865967*	1.734116	.000	20.78986	32.94207
	Day 29	31.184467*	1.734116	.000	25.10836	37.26057
	Day 64	40.631167*	1.734116	.000	34.55506	46.70727
	Day 100	38.658800*	1.734116	.000	32.58270	44.73490
Day 9	Day 0	-39.053267*	1.734116	.000	-45.12937	-32.97716
	Day 3	-27.561533*	1.734116	.000	-33.63764	-21.48543
	Day 6	-9.270233*	1.734116	.001	-15.34634	-3.19413
	Day 14	.892767	1.734116	1.000	-5.18334	6.96887
	Day 21	17.595733*	1.734116	.000	11.51963	23.67184
	Day 29	21.914233*	1.734116	.000	15.83813	27.99034
	Day 64	31.360933*	1.734116	.000	25.28483	37.43704
	Day 100	29.388567*	1.734116	.000	23.31246	35.46467
Day 14	Day 0	-39.946033*	1.734116	.000	-46.02214	-33.86993
	Day 3	-28.454300*	1.734116	.000	-34.53040	-22.37820
	Day 6	-10.163000*	1.734116	.000	-16.23910	-4.08690
	Day 9	-.892767	1.734116	1.000	-6.96887	5.18334
	Day 21	16.702967*	1.734116	.000	10.62686	22.77907
	Day 29	21.021467*	1.734116	.000	14.94536	27.09757
	Day 64	30.468167*	1.734116	.000	24.39206	36.54427
	Day 100	28.495800*	1.734116	.000	22.41970	34.57190
Day 21	Day 0	-56.649000*	1.734116	.000	-62.72510	-50.57290
	Day 3	-45.157267*	1.734116	.000	-51.23337	-39.08116
	Day 6	-26.865967*	1.734116	.000	-32.94207	-20.78986
	Day 9	-17.595733*	1.734116	.000	-23.67184	-11.51963
	Day 14	-16.702967*	1.734116	.000	-22.77907	-10.62686
	Day 29	4.318500	1.734116	.298	-1.75760	10.39460
	Day 64	13.765200*	1.734116	.000	7.68910	19.84130
	Day 100	11.792833*	1.734116	.000	5.71673	17.86894
Day 29	Day 0	-60.967500*	1.734116	.000	-67.04360	-54.89140
	Day 3	-49.475767*	1.734116	.000	-55.55187	-43.39966
	Day 6	-31.184467*	1.734116	.000	-37.26057	-25.10836

	Day 9	-21.914233*	1.734116	.000	-27.99034	-15.83813
	Day 14	-21.021467*	1.734116	.000	-27.09757	-14.94536
	Day 21	-4.318500	1.734116	.298	-10.39460	1.75760
	Day 64	9.446700*	1.734116	.001	3.37060	15.52280
	Day 100	7.474333*	1.734116	.010	1.39823	13.55044
Day 64	Day 0	-70.414200*	1.734116	.000	-76.49030	-64.33810
	Day 3	-58.922467*	1.734116	.000	-64.99857	-52.84636
	Day 6	-40.631167*	1.734116	.000	-46.70727	-34.55506
	Day 9	-31.360933*	1.734116	.000	-37.43704	-25.28483
	Day 14	-30.468167*	1.734116	.000	-36.54427	-24.39206
	Day 21	-13.765200*	1.734116	.000	-19.84130	-7.68910
	Day 29	-9.446700*	1.734116	.001	-15.52280	-3.37060
	Day 100	-1.972367	1.734116	.960	-8.04847	4.10374
Day 100	Day 0	-68.441833*	1.734116	.000	-74.51794	-62.36573
	Day 3	-56.950100*	1.734116	.000	-63.02620	-50.87400
	Day 6	-38.658800*	1.734116	.000	-44.73490	-32.58270
	Day 9	-29.388567*	1.734116	.000	-35.46467	-23.31246
	Day 14	-28.495800*	1.734116	.000	-34.57190	-22.41970
	Day 21	-11.792833*	1.734116	.000	-17.86894	-5.71673
	Day 29	-7.474333*	1.734116	.010	-13.55044	-1.39823
	Day 64	1.972367	1.734116	.960	-4.10374	8.04847

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางที่ ค-17 แสดงการวิเคราะห์ One way ANOVA และ Tukey's multiple comparison เพื่อเปรียบเทียบ % astaxanthin remaining ในสูตรตำรับที่ใช้สารทำอิมัลชัน (a) polysorbate 80 (b) sodium caseinate (c) สารทำอิมัลชันผสม polysorbate 80+sodium caseinate และ (d) astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 5 °C ณ เวลาต่างๆ

(a) สารทำอิมัลชันเดี่ยว polysorbate 80 ที่อุณหภูมิ 5 °C

ANOVA

Axt5cPS80

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10457.623	8	1307.203	297.730	.000
Within Groups	79.030	18	4.391		
Total	10536.653	26			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Axt5cPS80

Tukey HSD

(I) day	(J) day	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Day 0	Day 3	26.580667*	1.710862	.000	20.58604	32.57529
	Day 6	33.908333*	1.710862	.000	27.91371	39.90296
	Day 9	38.356833*	1.710862	.000	32.36221	44.35146
	Day 14	43.233267*	1.710862	.000	37.23864	49.22789
	Day 21	51.228900*	1.710862	.000	45.23428	57.22352
	Day 29	55.210467*	1.710862	.000	49.21584	61.20509
	Day 64	66.740200*	1.710862	.000	60.74558	72.73482
Day 100	65.080100*	1.710862	.000	59.08548	71.07472	
Day 3	Day 0	-26.580667*	1.710862	.000	-32.57529	-20.58604
	Day 6	7.327667*	1.710862	.010	1.33304	13.32229
	Day 9	11.776167*	1.710862	.000	5.78154	17.77079
	Day 14	16.652600*	1.710862	.000	10.65798	22.64722

	Day 21	24.648233*	1.710862	.000	18.65361	30.64286
	Day 29	28.629800*	1.710862	.000	22.63518	34.62442
	Day 64	40.159533*	1.710862	.000	34.16491	46.15416
	Day 100	38.499433*	1.710862	.000	32.50481	44.49406
Day 6	Day 0	-33.908333*	1.710862	.000	-39.90296	-27.91371
	Day 3	-7.327667*	1.710862	.010	-13.32229	-1.33304
	Day 9	4.448500	1.710862	.252	-1.54612	10.44312
	Day 14	9.324933*	1.710862	.001	3.33031	15.31956
	Day 21	17.320567*	1.710862	.000	11.32594	23.31519
	Day 29	21.302133*	1.710862	.000	15.30751	27.29676
	Day 64	32.831867*	1.710862	.000	26.83724	38.82649
	Day 100	31.171767*	1.710862	.000	25.17714	37.16639
Day 9	Day 0	-38.356833*	1.710862	.000	-44.35146	-32.36221
	Day 3	-11.776167*	1.710862	.000	-17.77079	-5.78154
	Day 6	-4.448500	1.710862	.252	-10.44312	1.54612
	Day 14	4.876433	1.710862	.167	-1.11819	10.87106
	Day 21	12.872067*	1.710862	.000	6.87744	18.86669
	Day 29	16.853633*	1.710862	.000	10.85901	22.84826
	Day 64	28.383367*	1.710862	.000	22.38874	34.37799
	Day 100	26.723267*	1.710862	.000	20.72864	32.71789
Day 14	Day 0	-43.233267*	1.710862	.000	-49.22789	-37.23864
	Day 3	-16.652600*	1.710862	.000	-22.64722	-10.65798
	Day 6	-9.324933*	1.710862	.001	-15.31956	-3.33031
	Day 9	-4.876433	1.710862	.167	-10.87106	1.11819
	Day 21	7.995633*	1.710862	.005	2.00101	13.99026
	Day 29	11.977200*	1.710862	.000	5.98258	17.97182
	Day 64	23.506933*	1.710862	.000	17.51231	29.50156
	Day 100	21.846833*	1.710862	.000	15.85221	27.84146
Day 21	Day 0	-51.228900*	1.710862	.000	-57.22352	-45.23428
	Day 3	-24.648233*	1.710862	.000	-30.64286	-18.65361
	Day 6	-17.320567*	1.710862	.000	-23.31519	-11.32594
	Day 9	-12.872067*	1.710862	.000	-18.86669	-6.87744
	Day 14	-7.995633*	1.710862	.005	-13.99026	-2.00101

	Day 29	3.981567	1.710862	.376	-2.01306	9.97619
	Day 64	15.511300*	1.710862	.000	9.51668	21.50592
	Day 100	13.851200*	1.710862	.000	7.85658	19.84582
Day 29	Day 0	-55.210467*	1.710862	.000	-61.20509	-49.21584
	Day 3	-28.629800*	1.710862	.000	-34.62442	-22.63518
	Day 6	-21.302133*	1.710862	.000	-27.29676	-15.30751
	Day 9	-16.853633*	1.710862	.000	-22.84826	-10.85901
	Day 14	-11.977200*	1.710862	.000	-17.97182	-5.98258
	Day 21	-3.981567	1.710862	.376	-9.97619	2.01306
	Day 64	11.529733*	1.710862	.000	5.53511	17.52436
	Day 100	9.869633*	1.710862	.000	3.87501	15.86426
	Day 64	Day 0	-66.740200*	1.710862	.000	-72.73482
Day 3		-40.159533*	1.710862	.000	-46.15416	-34.16491
Day 6		-32.831867*	1.710862	.000	-38.82649	-26.83724
Day 9		-28.383367*	1.710862	.000	-34.37799	-22.38874
Day 14		-23.506933*	1.710862	.000	-29.50156	-17.51231
Day 21		-15.511300*	1.710862	.000	-21.50592	-9.51668
Day 29		-11.529733*	1.710862	.000	-17.52436	-5.53511
Day 100		-1.660100	1.710862	.984	-7.65472	4.33452
Day 100		Day 0	-65.080100*	1.710862	.000	-71.07472
	Day 3	-38.499433*	1.710862	.000	-44.49406	-32.50481
	Day 6	-31.171767*	1.710862	.000	-37.16639	-25.17714
	Day 9	-26.723267*	1.710862	.000	-32.71789	-20.72864
	Day 14	-21.846833*	1.710862	.000	-27.84146	-15.85221
	Day 21	-13.851200*	1.710862	.000	-19.84582	-7.85658
	Day 29	-9.869633*	1.710862	.000	-15.86426	-3.87501
	Day 64	1.660100	1.710862	.984	-4.33452	7.65472

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(b) สารทำอิมัลชันเดี่ยว sodium caseinate ที่อุณหภูมิ 5 °C

ANOVA

Axt5cSC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7768.655	8	971.082	88.326	.000
Within Groups	197.898	18	10.994		
Total	7966.553	26			



Multiple Comparisons

Dependent Variable: Axt5cSC

Tukey HSD

(I) day	(J) day	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Day 0	Day 3	13.731700*	2.707317	.002	4.24563	23.21777
	Day 6	27.209933*	2.707317	.000	17.72387	36.69600
	Day 9	27.615467*	2.707317	.000	18.12940	37.10153
	Day 14	33.489633*	2.707317	.000	24.00357	42.97570
	Day 21	42.335733*	2.707317	.000	32.84967	51.82180
	Day 29	46.118733*	2.707317	.000	36.63267	55.60480
	Day 64	51.023400*	2.707317	.000	41.53733	60.50947
	Day 100	54.964867*	2.707317	.000	45.47880	64.45093
Day 3	Day 0	-13.731700*	2.707317	.002	-23.21777	-4.24563
	Day 6	13.478233*	2.707317	.002	3.99217	22.96430
	Day 9	13.883767*	2.707317	.002	4.39770	23.36983
	Day 14	19.757933*	2.707317	.000	10.27187	29.24400
	Day 21	28.604033*	2.707317	.000	19.11797	38.09010
	Day 29	32.387033*	2.707317	.000	22.90097	41.87310
	Day 64	37.291700*	2.707317	.000	27.80563	46.77777
	Day 100	41.233167*	2.707317	.000	31.74710	50.71923
Day 6	Day 0	-27.209933*	2.707317	.000	-36.69600	-17.72387

	Day 3	-13.478233*	2.707317	.002	-22.96430	-3.99217
	Day 9	.405533	2.707317	1.000	-9.08053	9.89160
	Day 14	6.279700	2.707317	.380	-3.20637	15.76577
	Day 21	15.125800*	2.707317	.001	5.63973	24.61187
	Day 29	18.908800*	2.707317	.000	9.42273	28.39487
	Day 64	23.813467*	2.707317	.000	14.32740	33.29953
	Day 100	27.754933*	2.707317	.000	18.26887	37.24100
Day 9	Day 0	-27.615467*	2.707317	.000	-37.10153	-18.12940
	Day 3	-13.883767*	2.707317	.002	-23.36983	-4.39770
	Day 6	-.405533	2.707317	1.000	-9.89160	9.08053
	Day 14	5.874167	2.707317	.462	-3.61190	15.36023
	Day 21	14.720267*	2.707317	.001	5.23420	24.20633
	Day 29	18.503267*	2.707317	.000	9.01720	27.98933
	Day 64	23.407933*	2.707317	.000	13.92187	32.89400
	Day 100	27.349400*	2.707317	.000	17.86333	36.83547
Day 14	Day 0	-33.489633*	2.707317	.000	-42.97570	-24.00357
	Day 3	-19.757933*	2.707317	.000	-29.24400	-10.27187
	Day 6	-6.279700	2.707317	.380	-15.76577	3.20637
	Day 9	-5.874167	2.707317	.462	-15.36023	3.61190
	Day 21	8.846100	2.707317	.079	-.63997	18.33217
	Day 29	12.629100*	2.707317	.005	3.14303	22.11517
	Day 64	17.533767*	2.707317	.000	8.04770	27.01983
	Day 100	21.475233*	2.707317	.000	11.98917	30.96130
Day 21	Day 0	-42.335733*	2.707317	.000	-51.82180	-32.84967
	Day 3	-28.604033*	2.707317	.000	-38.09010	-19.11797
	Day 6	-15.125800*	2.707317	.001	-24.61187	-5.63973
	Day 9	-14.720267*	2.707317	.001	-24.20633	-5.23420
	Day 14	-8.846100	2.707317	.079	-18.33217	.63997
	Day 29	3.783000	2.707317	.885	-5.70307	13.26907
	Day 64	8.687667	2.707317	.088	-.79840	18.17373
	Day 100	12.629133*	2.707317	.005	3.14307	22.11520
Day 29	Day 0	-46.118733*	2.707317	.000	-55.60480	-36.63267
	Day 3	-32.387033*	2.707317	.000	-41.87310	-22.90097

	Day 6	-18.908800*	2.707317	.000	-28.39487	-9.42273
	Day 9	-18.503267*	2.707317	.000	-27.98933	-9.01720
	Day 14	-12.629100*	2.707317	.005	-22.11517	-3.14303
	Day 21	-3.783000	2.707317	.885	-13.26907	5.70307
	Day 64	4.904667	2.707317	.675	-4.58140	14.39073
	Day 100	8.846133	2.707317	.079	-.63993	18.33220
Day 64	Day 0	-51.023400*	2.707317	.000	-60.50947	-41.53733
	Day 3	-37.291700*	2.707317	.000	-46.77777	-27.80563
	Day 6	-23.813467*	2.707317	.000	-33.29953	-14.32740
	Day 9	-23.407933*	2.707317	.000	-32.89400	-13.92187
	Day 14	-17.533767*	2.707317	.000	-27.01983	-8.04770
	Day 21	-8.687667	2.707317	.088	-18.17373	.79840
	Day 29	-4.904667	2.707317	.675	-14.39073	4.58140
	Day 100	3.941467	2.707317	.861	-5.54460	13.42753
Day 100	Day 0	-54.964867*	2.707317	.000	-64.45093	-45.47880
	Day 3	-41.233167*	2.707317	.000	-50.71923	-31.74710
	Day 6	-27.754933*	2.707317	.000	-37.24100	-18.26887
	Day 9	-27.349400*	2.707317	.000	-36.83547	-17.86333
	Day 14	-21.475233*	2.707317	.000	-30.96130	-11.98917
	Day 21	-12.629133*	2.707317	.005	-22.11520	-3.14307
	Day 29	-8.846133	2.707317	.079	-18.33220	.63993
	Day 64	-3.941467	2.707317	.861	-13.42753	5.54460

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(c) สารทำอิมัลชันผสม polysorbate 80 และ sodium caseinate ที่อุณหภูมิ 5 °C

ANOVA

Axt5cPS80SC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3952.708	8	494.089	48.702	.000
Within Groups	182.611	18	10.145		
Total	4135.319	26			



Multiple Comparisons

Dependent Variable: Axt5cPS80SC

Tukey HSD

(I) day	(J) day	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Day 0	Day 3	9.958033*	2.600649	.026	.84572	19.07035
	Day 6	12.145333*	2.600649	.005	3.03302	21.25765
	Day 9	12.807267*	2.600649	.003	3.69495	21.91958
	Day 14	21.130500*	2.600649	.000	12.01819	30.24281
	Day 21	22.713433*	2.600649	.000	13.60112	31.82575
	Day 29	21.095967*	2.600649	.000	11.98365	30.20828
	Day 64	33.494533*	2.600649	.000	24.38222	42.60685
	Day 100	42.652433*	2.600649	.000	33.54012	51.76475
Day 3	Day 0	-9.958033*	2.600649	.026	-19.07035	-.84572
	Day 6	2.187300	2.600649	.994	-6.92501	11.29961
	Day 9	2.849233	2.600649	.968	-6.26308	11.96155
	Day 14	11.172467*	2.600649	.010	2.06015	20.28478
	Day 21	12.755400*	2.600649	.003	3.64309	21.86771
	Day 29	11.137933*	2.600649	.010	2.02562	20.25025
	Day 64	23.536500*	2.600649	.000	14.42419	32.64881
	Day 100	32.694400*	2.600649	.000	23.58209	41.80671

Day 6	Day 0	-12.145333*	2.600649	.005	-21.25765	-3.03302
	Day 3	-2.187300	2.600649	.994	-11.29961	6.92501
	Day 9	.661933	2.600649	1.000	-8.45038	9.77425
	Day 14	8.985167	2.600649	.055	-.12715	18.09748
	Day 21	10.568100*	2.600649	.016	1.45579	19.68041
	Day 29	8.950633	2.600649	.056	-.16168	18.06295
	Day 64	21.349200*	2.600649	.000	12.23689	30.46151
	Day 100	30.507100*	2.600649	.000	21.39479	39.61941
Day 9	Day 0	-12.807267*	2.600649	.003	-21.91958	-3.69495
	Day 3	-2.849233	2.600649	.968	-11.96155	6.26308
	Day 6	-.661933	2.600649	1.000	-9.77425	8.45038
	Day 14	8.323233	2.600649	.089	-.78908	17.43555
	Day 21	9.906167*	2.600649	.027	.79385	19.01848
	Day 29	8.288700	2.600649	.092	-.82361	17.40101
	Day 64	20.687267*	2.600649	.000	11.57495	29.79958
	Day 100	29.845167*	2.600649	.000	20.73285	38.95748
Day 14	Day 0	-21.130500*	2.600649	.000	-30.24281	-12.01819
	Day 3	-11.172467*	2.600649	.010	-20.28478	-2.06015
	Day 6	-8.985167	2.600649	.055	-18.09748	.12715
	Day 9	-8.323233	2.600649	.089	-17.43555	.78908
	Day 21	1.582933	2.600649	.999	-7.52938	10.69525
	Day 29	-.034533	2.600649	1.000	-9.14685	9.07778
	Day 64	12.364033*	2.600649	.004	3.25172	21.47635
	Day 100	21.521933*	2.600649	.000	12.40962	30.63425
Day 21	Day 0	-22.713433*	2.600649	.000	-31.82575	-13.60112
	Day 3	-12.755400*	2.600649	.003	-21.86771	-3.64309
	Day 6	-10.568100*	2.600649	.016	-19.68041	-1.45579
	Day 9	-9.906167*	2.600649	.027	-19.01848	-.79385
	Day 14	-1.582933	2.600649	.999	-10.69525	7.52938
	Day 29	-1.617467	2.600649	.999	-10.72978	7.49485
	Day 64	10.781100*	2.600649	.014	1.66879	19.89341
	Day 100	19.939000*	2.600649	.000	10.82669	29.05131
Day 29	Day 0	-21.095967*	2.600649	.000	-30.20828	-11.98365

	Day 3	-11.137933*	2.600649	.010	-20.25025	-2.02562
	Day 6	-8.950633	2.600649	.056	-18.06295	.16168
	Day 9	-8.288700	2.600649	.092	-17.40101	.82361
	Day 14	.034533	2.600649	1.000	-9.07778	9.14685
	Day 21	1.617467	2.600649	.999	-7.49485	10.72978
	Day 64	12.398567*	2.600649	.004	3.28625	21.51088
	Day 100	21.556467*	2.600649	.000	12.44415	30.66878
Day 64	Day 0	-33.494533*	2.600649	.000	-42.60685	-24.38222
	Day 3	-23.536500*	2.600649	.000	-32.64881	-14.42419
	Day 6	-21.349200*	2.600649	.000	-30.46151	-12.23689
	Day 9	-20.687267*	2.600649	.000	-29.79958	-11.57495
	Day 14	-12.364033*	2.600649	.004	-21.47635	-3.25172
	Day 21	-10.781100*	2.600649	.014	-19.89341	-1.66879
	Day 29	-12.398567*	2.600649	.004	-21.51088	-3.28625
	Day 100	9.157900*	2.600649	.048	.04559	18.27021
Day 100	Day 0	-42.652433*	2.600649	.000	-51.76475	-33.54012
	Day 3	-32.694400*	2.600649	.000	-41.80671	-23.58209
	Day 6	-30.507100*	2.600649	.000	-39.61941	-21.39479
	Day 9	-29.845167*	2.600649	.000	-38.95748	-20.73285
	Day 14	-21.521933*	2.600649	.000	-30.63425	-12.40962
	Day 21	-19.939000*	2.600649	.000	-29.05131	-10.82669
	Day 29	-21.556467*	2.600649	.000	-30.66878	-12.44415
	Day 64	-9.157900*	2.600649	.048	-18.27021	-.04559

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(d) สารละลาย astaxanthin ในน้ำมันรำข้าว ที่อุณหภูมิ 5 °C

ANOVA

RBO5c

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1906.727	8	238.341	15.600	.000
Within Groups	275.011	18	15.278		
Total	2181.738	26			



Multiple Comparisons

Dependent Variable: RBO5c

Tukey HSD

(I) day	(J) day	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Day 0	Day 3	2.780400	3.191485	.992	-8.40212	13.96292
	Day 6	7.898833	3.191485	.305	-3.28369	19.08136
	Day 9	10.363300	3.191485	.082	-.81922	21.54582
	Day 14	11.146067	3.191485	.051	-.03646	22.32859
	Day 21	16.914100*	3.191485	.001	5.73158	28.09662
	Day 29	17.567100*	3.191485	.001	6.38458	28.74962
	Day 64	17.788267*	3.191485	.001	6.60574	28.97079
	Day 100	29.362800*	3.191485	.000	18.18028	40.54532
Day 3	Day 0	-2.780400	3.191485	.992	-13.96292	8.40212
	Day 6	5.118433	3.191485	.791	-6.06409	16.30096
	Day 9	7.582900	3.191485	.352	-3.59962	18.76542
	Day 14	8.365667	3.191485	.244	-2.81686	19.54819
	Day 21	14.133700*	3.191485	.008	2.95118	25.31622
	Day 29	14.786700*	3.191485	.005	3.60418	25.96922
	Day 64	15.007867*	3.191485	.004	3.82534	26.19039
	Day 100	26.582400*	3.191485	.000	15.39988	37.76492
Day 6	Day 0	-7.898833	3.191485	.305	-19.08136	3.28369

	Day 3	-5.118433	3.191485	.791	-16.30096	6.06409
	Day 9	2.464467	3.191485	.996	-8.71806	13.64699
	Day 14	3.247233	3.191485	.979	-7.93529	14.42976
	Day 21	9.015267	3.191485	.175	-2.16726	20.19779
	Day 29	9.668267	3.191485	.122	-1.51426	20.85079
	Day 64	9.889433	3.191485	.108	-1.29309	21.07196
	Day 100	21.463967*	3.191485	.000	10.28144	32.64649
Day 9	Day 0	-10.363300	3.191485	.082	-21.54582	.81922
	Day 3	-7.582900	3.191485	.352	-18.76542	3.59962
	Day 6	-2.464467	3.191485	.996	-13.64699	8.71806
	Day 14	.782767	3.191485	1.000	-10.39976	11.96529
	Day 21	6.550800	3.191485	.530	-4.63172	17.73332
	Day 29	7.203800	3.191485	.413	-3.97872	18.38632
	Day 64	7.424967	3.191485	.377	-3.75756	18.60749
	Day 100	18.999500*	3.191485	.000	7.81698	30.18202
Day 14	Day 0	-11.146067	3.191485	.051	-22.32859	.03646
	Day 3	-8.365667	3.191485	.244	-19.54819	2.81686
	Day 6	-3.247233	3.191485	.979	-14.42976	7.93529
	Day 9	-.782767	3.191485	1.000	-11.96529	10.39976
	Day 21	5.768033	3.191485	.678	-5.41449	16.95056
	Day 29	6.421033	3.191485	.555	-4.76149	17.60356
	Day 64	6.642200	3.191485	.513	-4.54032	17.82472
	Day 100	18.216733*	3.191485	.001	7.03421	29.39926
Day 21	Day 0	-16.914100*	3.191485	.001	-28.09662	-5.73158
	Day 3	-14.133700*	3.191485	.008	-25.31622	-2.95118
	Day 6	-9.015267	3.191485	.175	-20.19779	2.16726
	Day 9	-6.550800	3.191485	.530	-17.73332	4.63172
	Day 14	-5.768033	3.191485	.678	-16.95056	5.41449
	Day 29	.653000	3.191485	1.000	-10.52952	11.83552
	Day 64	.874167	3.191485	1.000	-10.30836	12.05669
	Day 100	12.448700*	3.191485	.023	1.26618	23.63122
Day 29	Day 0	-17.567100*	3.191485	.001	-28.74962	-6.38458
	Day 3	-14.786700*	3.191485	.005	-25.96922	-3.60418

	Day 6	-9.668267	3.191485	.122	-20.85079	1.51426
	Day 9	-7.203800	3.191485	.413	-18.38632	3.97872
	Day 14	-6.421033	3.191485	.555	-17.60356	4.76149
	Day 21	-.653000	3.191485	1.000	-11.83552	10.52952
	Day 64	.221167	3.191485	1.000	-10.96136	11.40369
	Day 100	11.795700*	3.191485	.034	.61318	22.97822
Day 64	Day 0	-17.788267*	3.191485	.001	-28.97079	-6.60574
	Day 3	-15.007867*	3.191485	.004	-26.19039	-3.82534
	Day 6	-9.889433	3.191485	.108	-21.07196	1.29309
	Day 9	-7.424967	3.191485	.377	-18.60749	3.75756
	Day 14	-6.642200	3.191485	.513	-17.82472	4.54032
	Day 21	-.874167	3.191485	1.000	-12.05669	10.30836
	Day 29	-.221167	3.191485	1.000	-11.40369	10.96136
	Day 100	11.574533*	3.191485	.039	.39201	22.75706
Day 100	Day 0	-29.362800*	3.191485	.000	-40.54532	-18.18028
	Day 3	-26.582400*	3.191485	.000	-37.76492	-15.39988
	Day 6	-21.463967*	3.191485	.000	-32.64649	-10.28144
	Day 9	-18.999500*	3.191485	.000	-30.18202	-7.81698
	Day 14	-18.216733*	3.191485	.001	-29.39926	-7.03421
	Day 21	-12.448700*	3.191485	.023	-23.63122	-1.26618
	Day 29	-11.795700*	3.191485	.034	-22.97822	-.61318
	Day 64	-11.574533*	3.191485	.039	-22.75706	-.39201

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางที่ ค-18 แสดงการวิเคราะห์ One-way ANOVA และ Tukey's multiple comparison เพื่อศึกษาผลของสารทำอิมัลชันต่อ % astaxanthin remaining ณ วันที่ 100 (a) ที่อุณหภูมิ 25 °C (b) ที่อุณหภูมิ 5 °C ของการศึกษาความคงตัวของเคมี

(a) ที่อุณหภูมิ 25 °C

Test of Homogeneity of Variances

% Axt remain D100

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.139	2	6	.026

ANOVA

% Axt remain D100

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	408.777	2	204.389	232.075	.000
Within Groups	5.284	6	.881		
Total	414.061	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: % Axt remain D100

	(I) EA	(J) EA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Dunnett T3	PS80	SC	-10.7764333*	.4201660	.002	-13.164017	-8.388849
		PS80SC	-16.2182667*	.8446276	.005	-21.423356	-11.013178
	SC	PS80	10.7764333*	.4201660	.002	8.388849	13.164017
		PS80SC	-5.4418333*	.9335226	.026	-9.677069	-1.206598
	PS80SC	PS80	16.2182667*	.8446276	.005	11.013178	21.423356
		SC	5.4418333*	.9335226	.026	1.206598	9.677069

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(b) ที่อุณหภูมิ 5 °C

Test of Homogeneity of Variances

% Axt remain D100

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.574	2	6	.011

ANOVA

% Axt remain D100

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	756.914	2	378.457	44.057	.000
Within Groups	51.540	6	8.590		
Total	808.455	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: % Axt remain D100

	(I) EA	(J) EA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Dunnett T3	PS80	SC	-10.1152000	2.8780409	.142	-27.647075	7.416675
		PS80SC	-22.4276667*	.6773741	.000	-25.112001	-19.743333
	SC	PS80	10.1152000	2.8780409	.142	-7.416675	27.647075
		PS80SC	-12.3124667	2.9048581	.095	-29.353609	4.728675
	PS80SC	PS80	22.4276667*	.6773741	.000	19.743333	25.112001
		SC	12.3124667	2.9048581	.095	-4.728675	29.353609

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางที่ ค-19 แสดงการวิเคราะห์ Student's t-test เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิระหว่าง 25 °C กับ 5 °C ต่อ % astaxanthin remaining ณ วันที่ 100 ของการศึกษาคงความคงตัวของเคมี แยกตามชนิดของสารทำอิมัลชัน

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
PS80 %Axt remain	8.302	.045	-73.964	4	.000	-29.6882667	.4013885	-30.8026999	-28.5738334
D100			-73.964	2.242	.000	-29.6882667	.4013885	-31.2482110	-28.1283224
SC %Axt remain	11.505	.027	-10.076	4	.001	-29.0270333	2.8807198	-37.0251936	-21.0288730
D100			-10.076	2.082	.008	-29.0270333	2.8807198	-40.9641250	-17.0899417
PS80SC %Axt remain	1.257	.325	-35.700	4	.000	-35.8976667	1.0055440	-38.6895044	-33.1058290
D100			-35.700	3.465	.000	-35.8976667	1.0055440	-38.8679078	-32.9274255
RBO %Axt remain	3.122	.152	-11.235	4	.000	-39.0790000	3.4782262	-48.7361041	-29.4218959
D100			-11.235	2.941	.002	-39.0790000	3.4782262	-50.2757360	-27.8822640

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	พรรณรัตน์ นงนวล
วัน เดือน ปี เกิด	31 สิงหาคม 2530
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	เภสัชศาสตรบัณฑิต (ภ.บ.) คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ที่อยู่ปัจจุบัน	17/4 หมู่ที่ 10 แขวงกระทุ่มราย เขตหนองจอก จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ผลงานตีพิมพ์	NONGNUAN, P. & CHARNVANICH, D. 2020. Effect of Emulsifiers on Physical Properties and Stability of Oral Rice Bran Oil Nanoemulsions. Key Engineering Materials, 859, 197-202.

