



ฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม

ULTRAVIOLET PROTECTIVE EFFECT OF MICROEMULSION

CONTAINING *KAEMPFERIA GALANGA* L. RHIZOME OIL

ศักดิ์ดนัย ดิษฐ์ศรี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2563

ฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ULTRAVIOLET PROTECTIVE EFFECT OF MICROEMULSION
CONTAINING *KAEMPFERIA GALANGA* L. RHIZOME OIL



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of MASTER OF SCIENCE
(Pharmaceutical Product Development)
Faculty of Pharmacy, Srinakharinwirot University

2020

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

ฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม

ของ

ศักดิ์ดนัย ดิษฐ์ศรี

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริวรรณ อธิคมกุลชัย) (รองศาสตราจารย์ ดร.ชุตตา จิตตสุโก)

..... ที่ปรึกษาร่วม กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.มยุรี กัลยาวัฒนกุล) (รองศาสตราจารย์ ดร.วัลลภ วิชะรังสรรค์)

ชื่อเรื่อง	ฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลตของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม
ผู้วิจัย	ศักดิ์ดนัย ดิษฐ์ศรี
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2563
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริวรรณ อธิคมกุลชัย
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. มยุรี กัลยาวัฒนกุล

ผลกระทบจากรังสีอัลตราไวโอเลตที่เกิดจากแสงแดด คือ ทำให้เกิดจุดต่างดำ ผิวไหม้เกรียม การลดระดับของภูมิคุ้มกันของร่างกายทำให้เสี่ยงต่อการติดเชื้อ รื้อร่อนก่อนวัย เกิดภาวะอักเสบของผิวหนัง และกระตุ้นให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุของโรคมะเร็งผิวหนัง สารกันแดดจากธรรมชาตินอกจากจะช่วยป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลตแล้วยังช่วยลดผลข้างเคียงจากการใช้สารเคมี ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันเหง้าเปราะหอมในการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลต พัฒนาตำรับน้ำมันเหง้าเปราะหอมในรูปแบบไมโครอิมัลชันและเอสเซนส์ จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีโดยใช้เทคนิค gas chromatography เตรียมตำรับไมโครอิมัลชันด้วยวิธี phase titration method ทดสอบความคงสภาพทางกายภาพด้วยเทคนิค dynamic light scattering และทดสอบความคงสภาพทางเคมีด้วยเทคนิค UV-Visible spectrophotometry ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าน้ำมันเหง้าเปราะหอมมีสารสำคัญคือ ethyl cinnamate มีค่าป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลตอยู่ในการป้องกันระดับสูงซึ่งป้องกันได้ร้อยละ 96-97 ไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่เตรียมได้เป็นชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w emulsion) ให้ค่าป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลตอยู่ในระดับปานกลางซึ่งป้องกันได้ร้อยละ 93-95 จากการทดสอบความคงสภาพทางกายภาพของไมโครอิมัลชันพบว่าเมื่อเก็บไมโครอิมัลชันไว้ที่ 30 และ 45 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 56 วัน ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของขนาดอนุภาค การกระจายตัวของอนุภาคและค่าศักย์ซีต้าแสดงถึงความคงตัวทางกายภาพของตำรับและไมโครอิมัลชันที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีสาร ethyl cinnamate คงเหลืออยู่มากที่สุด ผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียสมีความคงสภาพทางกายภาพมากที่สุด โดยสรุปการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอมสามารถถูกพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลตที่มีประสิทธิภาพได้

คำสำคัญ : น้ำมันเหง้าเปราะหอม, รังสีอัลตราไวโอเลต, ไมโครอิมัลชัน, ผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด

Title	ULTRAVIOLET PROTECTIVE EFFECT OF MICROEMULSION CONTAINING <i>KAEMPFERIA GALANGA</i> L. RHIZOME OIL
Author	SAKDANAI DITSRI
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2020
Thesis Advisor	Assistant Professor Sirivan Athikomkulchai , Ph.D.
Co Advisor	Associate Professor Mayuree Kanlayavattanakul , Ph.D.

The effects of ultraviolet rays caused by sunlight include the formation of dark spots, sunburned skin, and a decrease in immune levels in the body. This resulted in an increase in the risk of infection and premature aging. Furthermore, ultraviolet rays can also cause skin inflammation, an increase in white blood cells and collagen tissue damage. This resulted in incomplete cell repair, the stimulation of free radicals and the cause of skin cancer. As a result, natural substances were sought to protect against ultraviolet rays and to reduce the side effects of the use of chemicals. In this research, the objective was to study the efficacy of *Kaempferia galanga* L. rhizome oil in preventing ultraviolet radiation, and developed a recipe in the form of the microemulsion and essence. The study of chemical composition using gas chromatography technique, the microemulsion formula was prepared by the phase titration method, a physical stability test using the dynamic light scattering technique, and a chemical stability test using the UV-Visible spectrophotometry technique. The results of the study showed *Kaempferia galanga* L. rhizome oil, which contains ethyl cinnamate, has the ability to protect against ultraviolet B rays as well, while brittle rhizome oil has a high level of sun protective factor (SPF), which can prevent 96-97%. It was developed into a sun protection microemulsion formulation and a thermodynamic stability system. The formulation was an oil-in-water microemulsion (o/w emulsion) and the highest formula of rhizome oil was 27.27%. The sun protective factor was moderately protective, which could prevent 93-95%. The physical stability test of microemulsion at 30-45 °C for 56 days showed no significant change in particle size, the polydispersity index and zeta potential indicating the stability of residual ethyl cinnamate content in the formula. The microemulsion stored at 30 °C had the most ethyl cinnamate remains. The essence products kept at 4 °C had the most physical stability. In conclusion, this study showed that *Kaempferia galanga* L. rhizome oil microemulsion could be developed as effective ultraviolet protective products.

Keyword : *Kaempferia galanga* L. rhizome oil, Ultraviolet radiation, Microemulsion, Sun protection products

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงจนเป็นรูปเล่มที่สมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาของคณะอาจารย์ทั้งหลาย ทั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริวรรณ อธิคมกุลชัย อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และ รองศาสตราจารย์ ดร. มยุรี กัลยาวัฒนกุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ซึ่งท่านทั้งสองได้สละเวลาอันมีค่าคอยช่วยดูแล เอาใจใส่ ให้คำแนะนำตลอดจนจบกระบวนการวิจัย พร้อมเสนอแนะข้อคิดเห็นต่างๆที่เป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัยครั้งต่อไป ทั้งนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความเมตตาของคณาจารย์ที่ปรึกษาทั้งสองท่านไว้ ณ โอกาสนี้

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง รองศาสตราจารย์ ดร. ชูดา จิตตสุโก ที่ได้ให้ความกรุณาเป็นประธานการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ รวมถึงให้คำชี้แนะและข้อเสนอสำหรับการทำงานวิจัยตั้งแต่เริ่มต้น ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. วัลลภ วีชะรังสรรค์ ที่ได้ให้ความกรุณาเป็นกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาแก่ผู้วิจัยจนมีความรู้ความสามารถในการทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงรวมถึงได้รับองค์ความรู้ที่สามารถนำไปประยุกต์ในอนาคตต่อไป

ขอกราบขอบพระคุณคณะเจ้าหน้าที่ในกองปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ทุกท่านทุกฝ่าย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒทุกท่านที่ได้คอยช่วยเหลือสนับสนุนผู้วิจัยตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่รวมทั้งอุปกรณ์ต่างๆแก่ผู้วิจัยจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงที่ได้อนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์แก่ผู้วิจัยจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ท้ายสุดนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาผู้อยู่เบื้องหลังความสำเร็จนี้ตลอดมาซึ่งผู้วิจัยมีความซาบซึ้งในพระคุณเป็นอันมาก รวมถึงขอขอบคุณน้องสาวและภรรยาที่คอยสนับสนุนและผลักดันผู้วิจัยจนเสร็จสิ้นปริญญานิพนธ์

ศักดิ์ดนัย ดิษฐ์ศรี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ภูมิหลังของงานวิจัย	1
ปัญหาของงานวิจัย	3
ความมุ่งหมายของงานวิจัย.....	3
ตัวแปรที่เกี่ยวข้อง	3
กรอบแนวคิดในการวิจัย	4
ขอบเขตของการวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม.....	5
รังสีอัลตราไวโอเล็ต	5
ประเภทของรังสีอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet)	5
รังสีอัลตราไวโอเล็ตเอ (Ultraviolet A)	5
รังสีอัลตราไวโอเล็ตบี (Ultraviolet B)	5
รังสีอัลตราไวโอเล็ตซี (Ultraviolet C)	6
การเกิดความเสี่ยงสภาพของผิวหนังจากรังสีอัลตราไวโอเล็ต	6

สารกันแดดในปัจจุบัน	8
เปราะหอม.....	8
สารสำคัญในเปราะหอม	9
การทดสอบความเป็นพิษของเปราะหอมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องของเปราะหอม	10
การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปราะหอม	11
ไมโครอิมัลชัน	11
การทดสอบฤทธิ์ในการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของน้ำมันเหง้าเปราะหอมและไมโครอิมัลชัน จากน้ำมันเหง้าเปราะหอม	12
เอสเซนส์	14
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	15
เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	15
วัสดุอุปกรณ์.....	15
เครื่องมือ	15
วัตถุดิบและสารเคมี.....	16
วิธีดำเนินงานวิจัย	16
การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าเปราะหอม	16
การวิเคราะห์หาสารสำคัญในน้ำมันเหง้าเปราะหอมด้วยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)	17
การทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของน้ำมันเหง้าเปราะหอม	17
การวิเคราะห์ปริมาณสาร ethyl cinnamate ด้วยเทคนิค UV-visible spectrophotometry	18
การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม	18
การศึกษาชนิดของไมโครอิมัลชัน.....	21
การศึกษาคงสภาพทางกายภาพของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม	21

การศึกษาความคงสภาพทางเคมีของไมโครอิมัลชันของน้ำมันห่านเปราะหอม	21
การทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของไมโครอิมัลชันของน้ำมันห่านเปราะหอม.....	22
การพัฒนาผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันห่านเปราะหอม	22
ขั้นตอนการเตรียมตัวรับผลิตภัณฑ์เอสเซนส์.....	23
การศึกษาความคงสภาพทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์เอสเซนส์.....	28
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	29
สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล.....	29
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย	30
ผลการเตรียมสารสกัดน้ำมันห่านเปราะหอม.....	30
ผลการวิเคราะห์หาสารสำคัญในน้ำมันห่านเปราะหอมด้วยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)	30
การทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของน้ำมันห่านเปราะหอม	33
ผลการเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันห่านเปราะหอม.....	34
ผลการศึกษาชนิดของไมโครอิมัลชัน.....	35
การศึกษาความคงสภาพทางกายภาพของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันห่านเปราะหอม	37
ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารมาตรฐาน ethyl cinnamate ในน้ำมันห่านเปราะหอมด้วยวิธี UV-visible spectrophotometry	39
การศึกษาความคงสภาพทางเคมีของไมโครอิมัลชันน้ำมันจากห่านเปราะหอม	40
การทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันห่านเปราะหอม	42
การพัฒนาผลิตภัณฑ์เอสเซนส์จากไมโครอิมัลชันจากน้ำมันห่านเปราะหอม.....	42
บทที่ 5 สรุปผลงานวิจัย อภิปรายและข้อเสนอแนะ.....	63
ข้อเสนอแนะ	66

บรรณานุกรม	67
ประวัติผู้เขียน.....	71



สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 แสดงค่า $EE \times I$ ในความยาวคลื่นต่าง ๆ.....	12
ตาราง 2 แสดงค่าการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลตบี.....	13
ตาราง 3 องค์ประกอบของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอมและอัตราส่วนของ องค์ประกอบ.....	20
ตาราง 4 องค์ประกอบของเอสเซนส์ผสมไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม.....	23
ตาราง 5 สูตรตำรับผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม (สูตร 1-3).25	
ตาราง 6 สูตรตำรับผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม (สูตร 4-6).26	
ตาราง 7 สูตรตำรับผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม (สูตร 7-9).27	
ตาราง 8 สูตรตำรับผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม (สูตร 10-12)	28
ตาราง 9 ข้อมูลทางเคมีของสารประกอบที่พบในน้ำมันเหง้าเปราะหอมจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).....	31
ตาราง 10 แสดงค่าขนาดอนุภาค (size) การกระจายของขนาดอนุภาค (polydispersity index; Pdl) และค่าศักย์ซีต้า (zeta potential) ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอมหลังการ ทดสอบความคงสภาพที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 56 วัน.....	37
ตาราง 11 แสดงค่าความยาวคลื่น (λ max) ของสาร ethyl cinnamate ในคำรับไมโครอิมัลชันของ น้ำมันจากเหง้าเปราะหอมหลังการทดสอบความคงสภาพที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 56 วัน.....	40
ตาราง 12 ผลการทดสอบลักษณะทางกายภาพของตำรับผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ผสมไมโครอิมัลชัน ของเหง้าเปราะหอม.....	44

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 กลไกการเกิดการอักเสบจากรังสีอัลตราไวโอเลต	7
ภาพประกอบ 2 ผลของ Reactive Oxygen Species ต่อผิวหนัง	7
ภาพประกอบ 3 เหง้าเปราะหอม.....	9
ภาพประกอบ 4 (A) ethyl cinnamate และ (B) ethyl p-methoxycinnamate	10
ภาพประกอบ 5 โคโรมาโตแกรมของน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry	33
ภาพประกอบ 6 ผลของสารลดแรงตึงผิวที่แตกต่างกันในการเกิดไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้า เปราะหอมบนแผนภาพไตรแวกูลาร์ภาคเติมในอัตราส่วนของ Tween 80 [®] เป็นสารลดแรงตึงผิวอย่าง เดียว (A), Tween 80 [®] : propylene glycol ในอัตราส่วน 1:1 (B) Tween 80 [®] : propylene glycol ในอัตราส่วน 1:2 (C) และ Tween 80 [®] : propylene glycol ในอัตราส่วน 1:3 (D).....	35
ภาพประกอบ 7 อนุภาคของไมโครอิมัลชันที่ย้อมสีด้วย (A) brilliant blue และ (B) Sudan IV....	36
ภาพประกอบ 8 การแพร่กระจายของ brilliant blue (น้ำเงิน) และ Sudan IV (แดง) ในตำรับ ไมโครอิมัลชันเปรียบเทียบกับ (A) เริ่มต้นหยดสารและ (B) หลังจากปล่อยทิ้งไว้.....	36
ภาพประกอบ 9 (A) ค่าขนาดอนุภาค (size), (B) ค่าการกระจายตัวของอนุภาค (Pdi) และ (C) ค่าศักย์ซีต้า (zeta potential value) ของตำรับไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอมหลังเตรียม เสร็จทันทีและหลังเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0, 14, 28, 42, 56 วัน	38
ภาพประกอบ 10 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน ethyl cinnamate ในตัวทำละลาย DMSO กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 281.0 nm.....	39
ภาพประกอบ 11 ค่าปริมาณคงเหลือของสาร ethyl cinnamate ในตำรับไมโครอิมัลชันจากน้ำมัน เหง้าเปราะหอม.....	41
ภาพประกอบ 12 ตำรับเอสเซนส์ตำรับที่ 1 หลังเตรียมตำรับเสร็จทันที	45

ภาพประกอบ 13 ตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่เวลา (A) 30 วัน, (B) 60 วัน และ (C) 90 วัน	46
ภาพประกอบ 14 ตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสที่เวลา (A) 30 วัน, (B) 60 วันและ (C) 90 วัน	47
ภาพประกอบ 15 ตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสที่เวลา (A) 30 วัน, (B) 60 วันและ (C) 90 วัน	48
ภาพประกอบ 16 แสดงค่า pH ของตำรับเอสเซนส์ที่เวลา 30, 60 และ 90 วันเปรียบเทียบกับค่า pH ของตำรับเอสเซนส์หลังเตรียมตำรับเสร็จทันที	49
ภาพประกอบ 17 แสดงค่าความหนืดของตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา (สีแดง) 0 วัน, (สีเขียวอ่อน) 30 วัน, (สีน้ำเงิน) 60 และ (สีเขียวเข้ม) 90 วัน	50
ภาพประกอบ 18 แสดงค่าความหนืดของตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา (สีแดง) 0 วัน, (สีเขียวอ่อน) 30 วัน, (สีน้ำเงิน) 60 และ (สีเขียวเข้ม) 90 วัน	51
ภาพประกอบ 19 แสดงค่าความหนืดของตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา (สีแดง) 0 วัน, (สีเขียวอ่อน) 30 วัน, (สีน้ำเงิน) 60 และ (สีเขียวเข้ม) 90 วัน	52
ภาพประกอบ 20 ค่าความหนืดของตำรับเอสเซนส์ที่ทดสอบความคงสภาพโดยวิธี Long term stability โดยวัดที่อัตราเฉือน (A) 0.5, (B) 20, (C) 40, (D) 60, (E) 80 และ (F) 100 รอบต่อวินาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา 0, 30, 60 และ 90 วันเปรียบเทียบกับหลังเตรียมตำรับทันที	53
ภาพประกอบ 21 แสดงค่าความเค้นของตำรับ (shear stress) ของตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา 0, 30, 60 และ 90 วัน แสดงถึงลักษณะของ shear thinning fluid ซึ่งเป็นคุณสมบัติของไหลแบบ Pseudoplastic ซึ่งความหนืดจะลดลงเมื่อเพิ่มอัตราเฉือนมากขึ้น	55
ภาพประกอบ 22 แสดงค่าความเค้นของตำรับ (shear stress) ของตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา (สีแดง) 0 วัน, (สีเขียวอ่อน) 30 วัน, (สีน้ำเงิน) 60 และ (สีเขียวเข้ม) 90 วัน แสดงถึงลักษณะของ shear thinning fluid ซึ่งเป็นคุณสมบัติของไหลแบบ Pseudoplastic ซึ่งความหนืดจะลดลงเมื่อเพิ่มอัตราเฉือนมากขึ้น	56

ภาพประกอบ 23 แสดงค่าความเค้นของตำรับ (shear stress) ของตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา (สีแดง) 0 วัน, (สีเขียวอ่อน) 30 วัน, (สีน้ำเงิน) 60 และ (สีเขียวเข้ม) 90 วัน วัน แสดงถึงลักษณะของ newtonian ในวันที่ 30, 60 และ 90 วัน ซึ่งเป็นคุณสมบัติของไหลแบบ newtonian ซึ่งความหนืดไม่ขึ้นกับอัตราเฉือน	57
ภาพประกอบ 24 ค่าความเค้นของตำรับเอสเซนส์ที่ทดสอบความคงสภาพโดยวิธี Long term stability โดยวัดที่อัตราเฉือน 0.5(A), 20(B), 40(C), 60(D), 80(E) และ 100 รอบต่อวินาที(F) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา 0, 30, 60 และ 90 วันเปรียบเทียบกับหลังเตรียมตำรับทันที.....	58
ภาพประกอบ 25 ตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้หลังครบทดสอบความคงสภาพด้วยวิธี heating-cooling cycle stability.....	59
ภาพประกอบ 26 แสดงค่า pH ของตำรับเอสเซนส์ที่เวลาหลังเตรียมตำรับเสร็จทันทีเปรียบเทียบกับหลังครบทดสอบความคงสภาพด้วยวิธี heating-cooling cycle stability	60
ภาพประกอบ 27 ค่าความหนืดของตำรับเอสเซนส์ที่ทดสอบความคงสภาพโดยวิธี heating-cooling cycle stability โดยวัดที่อัตราเฉือน (A) 0.5, (B) 20, (C) 40, (D) 60, (E) 80 และ (F) 100 รอบต่อวินาทีเปรียบเทียบกับหลังเตรียมตำรับทันที.....	61
ภาพประกอบ 28 ค่าความเค้นของตำรับเอสเซนส์ที่ทดสอบความคงสภาพโดยวิธี heating-cooling cycle stability โดยวัดที่อัตราเฉือน (A) 0.5, (B) 20, (C) 40, (D) 60, (E) 80 และ (F) 100 รอบต่อวินาทีเปรียบเทียบกับหลังเตรียมตำรับทันที	62

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลังของงานวิจัย

รังสีอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet radiation) เป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดจุดด่างดำ ผิวน้ำเกรียม การลดระดับของภูมิคุ้มกันของร่างกายทำให้เสี่ยงต่อการติดเชื้อ รื้อร่อนก่อนวัยและที่สำคัญคือเป็นสาเหตุของโรคมะเร็งผิวหนัง (Korac & Khambholja, 2011; A. K. Mishra, Mishra, & Chattopadhyay, 2011) เมื่อร่างกายสัมผัสกับรังสีอัลตราไวโอเล็ตจะทำให้เกิดภาวะอักเสบของเซลล์ผิวหนัง เม็ดเลือดขาวเพิ่มจำนวนขึ้น เกิดความเสียหายกับเนื้อเยื่อคอลลาเจน ส่งผลให้เกิดการซ่อมแซมเซลล์ได้ไม่สมบูรณ์และกระตุ้นให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species, ROS) ทำให้เกิดภาวะออกซิไดส์เกินสมดุล (oxidative stress) ก่อให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์และเป็นสาเหตุของโรคมะเร็งผิวหนังได้ (A. K. Mishra et al., 2011) อุบัติการณ์การเกิดโรคมะเร็งผิวหนังจากการสัมผัสรังสีอัลตราไวโอเล็ตในแสงแดดธรรมชาติเป็นประจำเพิ่มสูงขึ้นมากถึงร้อยละ 44 ของช่วงปีค.ศ. 2006 ถึงปีค.ศ. 2012 โดยเพิ่มขึ้นในทุกวัย (Watson, Holman, & Maguire-Eisen, 2016)

ปัจจุบันมีการคิดค้นวิธีที่ช่วยป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตมากมาย เช่น การสวมใส่เสื้อผ้า การสวมหมวก การใช้ร่มกันแดด รวมถึงการทาผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารกันแดด สารกันแดดในปัจจุบันแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ สารกันแดดทางกายภาพ (physical sunscreen) มีคุณสมบัติในการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตโดยการสะท้อนรังสีอัลตราไวโอเล็ตเมื่อสัมผัสกับผิวหนัง ตัวอย่างเช่น ซิงค์ออกไซด์ (zinc oxide) ไททาเนียมไดออกไซด์ (titanium dioxide) อีกประเภทหนึ่งคือสารกันแดดทางเคมี (chemical sunscreen) มีคุณสมบัติในการดูดซับรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่มากระทบกับผิวหนัง สารกันแดดชนิดนี้ส่วนมากสามารถป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตบี ตัวอย่างเช่น avobenzone, octinoxate, octocrylene, padimate O (Korac & Khambholja, 2011; Latha et al., 2013) แม้ว่าในปัจจุบันการใช้สารกันแดดทั้งสองประเภทจะให้ประสิทธิภาพในการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ดี แต่จากการทบทวนวรรณกรรม พบรายงานผลข้างเคียงจากสารกันแดดเหล่านี้ ทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ต่อผู้ใช้ ได้แก่ การเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนเอสโตรเจน กระตุ้นการทำงานของต่อมไทรอยด์ ทำให้เกิดอาการแพ้ (Krause et al., 2012) พืชหลายชนิดสร้างสารทุติยภูมิที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายคลึงกับสารกันแดดทางเคมี จึงมีความเป็นไปได้ว่าสารจากธรรมชาติเหล่านี้อาจมีฤทธิ์ในการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตโดยการดูด

ซัปรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้ การนำสารจากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตมาใช้ทดแทนสารเคมีอาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยลดผลข้างเคียงเกิดจากการใช้สารกันแดดทางเคมีได้

เหง้าเปราะหอมเป็นสมุนไพรที่มีการบันทึกการใช้ในตำรับยาอายุรเวชของอินเดียสำหรับรักษาอาการไอ หอบหืดและช่วยระบบย่อยอาหาร (Raina & Abraham, 2015) จากรายงานวิจัยพบว่าน้ำมันที่สกัดจากเหง้าเปราะหอมประกอบด้วยสารกลุ่ม cinnamate derivatives ซึ่งเป็นสารกลุ่มเดียวกับสารกันแดดที่มีฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ต จากการศึกษาศักยภาพในการป้องกันแดดของผลิตภัณฑ์ครีมที่ผสมน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่ความเข้มข้นร้อยละ 7 พบว่ามีค่า sun protection factor (SPF) เท่ากับ 4.69 (Athikomkulchai, 2007) ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าน้ำมันเหง้าเปราะหอมอาจมีฤทธิ์ต้านรังสีอัลตราไวโอเล็ตแต่เนื่องจากค่า SPF ค่อนข้างต่ำจึงยังไม่สามารถนำไปใช้แทนผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดได้ ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านรังสีอัลตราไวโอเล็ตของน้ำมันเปราะหอมและพัฒนาผลิตภัณฑ์กันแดดที่มีส่วนผสมของน้ำมันเปราะหอมที่สามารถนำไปทดแทนผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดได้

ไมโครอิมัลชัน (microemulsion) เป็นระบบนำส่ง (delivery system) ที่มีความคงตัวทางอุณหพลศาสตร์ (thermodynamically stable) สามารถเกิดได้เองโดยไม่ต้องใช้พลังงาน นำส่งได้ทั้งสารที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ ประกอบด้วยน้ำ น้ำมัน สารลดแรงตึงผิว และสารลดแรงตึงผิวร่วม การตั้งตำรับทำได้โดยหาอัตราส่วนขององค์ประกอบที่เหมาะสมผ่านแผนภาพไตรวัฏภาคเทียม โดยที่ไมโครอิมัลชันมีความคงสภาพทางอุณหพลศาสตร์มากกว่าอิมัลชันซึ่งช่วยให้ตำรับน้ำมันมีความคงสภาพมากขึ้นเนื่องจากขนาดอนุภาคของไมโครอิมัลชันมีขนาดเล็กมีพื้นที่ผิวมาก ทำให้สารที่ถูกเก็บกักในไมโครอิมัลชันละลายได้มากขึ้นและซึมผ่านผิวหนังได้ดีขึ้น นอกจากนี้กระบวนการผลิตไมโครอิมัลชันสามารถทำได้ง่าย ไม่ซับซ้อนและไม่ต้องใช้พลังงานในการเตรียม (Liu et al., 2013; Sisak, Daik, & Ramli, 2017; อัจฉราภรณ์ สิงห์หาญ & รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2558)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยนี้คือทำให้ทราบฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของน้ำมันเหง้าเปราะหอมและไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม ซึ่งอาจนำมาใช้ทดแทนการใช้สารเคมีในผลิตภัณฑ์กันแดดทางเคมีได้ และได้ผลิตภัณฑ์กันแดดที่มีส่วนผสมจากสารจากธรรมชาติที่สามารถนำไปใช้ได้จริง

ปัญหาของงานวิจัย

1. น้ำมันเหง้าเปราะหอมที่สกัดด้วยการกลั่นด้วยน้ำมีฤทธิ์ต้านรังสีอัลตราไวโอเล็ตหรือไม่
2. ไมโครอิมัลชันมีฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตเทียบเท่ากับน้ำมันเปราะหอมหรือไม่
3. ไมโครอิมัลชันมีความคงสภาพทางกายภาพและทางเคมีหรือไม่
4. ตำรับเอสเซนส์จากไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอมมีความคงสภาพทางกายภาพและทางเคมีหรือไม่

ความมุ่งหมายของงานวิจัย

1. เพื่อทดสอบฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของน้ำมันเหง้าเปราะหอมและไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม
2. เพื่อทดสอบความคงสภาพทางกายภาพและทางเคมีของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม
3. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เอสเซนส์จากไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม

ตัวแปรที่เกี่ยวข้อง

ตัวแปรที่เกี่ยวข้องในงานวิจัย มีดังนี้

ระยะที่ 1

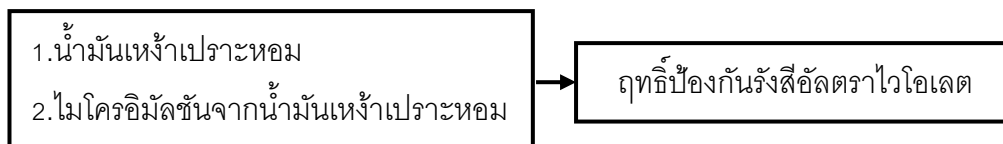
- 1.1 ตัวแปรต้น แบ่งเป็นดังนี้
 - 1.1.1 น้ำมันเหง้าเปราะหอม
 - 1.1.2 ไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม
- 1.2 ตัวแปรตาม แบ่งเป็นดังนี้
 - 1.2.1 ฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ต

ระยะที่ 2

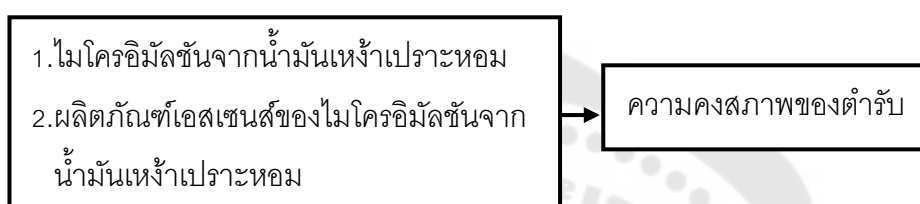
- 2.1 ตัวแปรต้น แบ่งเป็นดังนี้
 - 2.1.1 ไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม
 - 2.1.2 ผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม
- 2.2 ตัวแปรตาม แบ่งเป็นดังนี้
 - 2.2.1 ความคงสภาพของตำรับ

กรอบแนวคิดในการวิจัย

ระยะที่ 1



ระยะที่ 2



ขอบเขตของการวิจัย

1. ทดสอบฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของน้ำมันเหง้าเปราะหอม
2. พัฒนาไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่มีฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ต
3. ทดสอบความคงสภาพทางกายภาพและทางเคมีของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม
4. พัฒนาผลิตภัณฑ์เอสเซนส์จากไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของน้ำมันเหง้าเปราะหอมและไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม
2. ได้ไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่มีฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตและมีความคงสภาพทางกายภาพและเคมี
3. ได้ผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่มีความคงสภาพทางกายภาพ

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

รังสีอัลตราไวโอเล็ต

รังสีคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ รังสีอินฟราเรด (infrared radiation) แสงที่มองเห็นได้ (visible spectroscopy) และ รังสีอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet radiation) รังสีอินฟราเรดมีความยาวคลื่นตั้งแต่ 1-1000 ไมโครเมตรซึ่งมีความถี่ในช่วงเดียวกับไมโครเวฟ ในส่วนของแสงที่มองเห็นได้ คือ ช่วงความยาวคลื่นของการส่องสว่างโดยทั่วไป รังสีอัลตราไวโอเล็ตแบ่งออกเป็น 3 ประเภทตามความยาวคลื่นและพลังงาน ได้แก่ รังสีอัลตราไวโอเล็ตเอ มีความยาวคลื่น 320-400 นาโนเมตร รังสีอัลตราไวโอเล็ตบี มีความยาวคลื่น 290-320 นาโนเมตร และรังสีอัลตราไวโอเล็ตซี มีความยาวคลื่น 200-290 นาโนเมตร ความยาวคลื่นที่แตกต่างกันและพลังงานที่เกี่ยวข้องกับรังสีอัลตราไวโอเล็ตสอดคล้องกับผลกระทบที่แตกต่างกันกับเซลล์ผิวหนังอย่างชัดเจน (Korac & Khambholja, 2011)

ประเภทของรังสีอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet)

รังสีอัลตราไวโอเล็ตเอ (Ultraviolet A)

รังสีอัลตราไวโอเล็ตเอมีความยาวคลื่นอยู่ในช่วง 320-400 นาโนเมตร ซึ่งจะมีค่าความยาวคลื่นที่มากกว่าเมื่อเทียบกับรังสีอัลตราไวโอเล็ตบี รังสีอัลตราไวโอเล็ตเอมีความสามารถเจาะลึกผ่านชั้นผิวหนังได้และไม่ถูกกรองโดยสิ่งแวดลอม เช่น กระดาษ หน้าต่าง ประมาณร้อยละ 50 ของการสัมผัสกับรังสีอัลตราไวโอเล็ตเอเกิดขึ้นในที่ร่มที่ไม่โดนแสงแดดโดยตรงซึ่งแตกต่างกับรังสีอัลตราไวโอเล็ตบีที่สามารถถูกกรองด้วยสิ่งแวดลอมได้ รังสีอัลตราไวโอเล็ตเอส่งผลให้เกิดอาการข้างเคียง ได้แก่ การลดภูมิคุ้มกันสร้างความเสียหายให้กับตาและทำให้เกิดมะเร็งผิวหนัง (Korac & Khambholja, 2011)

รังสีอัลตราไวโอเล็ตบี (Ultraviolet B)

รังสีอัลตราไวโอเล็ตบี มีความยาวคลื่นสั้นกว่าเมื่อเทียบกับรังสีอัลตราไวโอเล็ตเอ ซึ่งอยู่ในช่วงระหว่างความยาวคลื่น 290-320 นาโนเมตร อัตราส่วนของรังสีอัลตราไวโอเล็ตบีจะมีอัตราส่วนน้อยกว่ารังสีอัลตราไวโอเล็ตเอ ซึ่งอัตราส่วนของรังสีอัลตราไวโอเล็ตเอกับรังสีอัลตราไวโอเล็ตบีบนผิวโลก คือ 20:1 รังสีอัลตราไวโอเล็ตบีจะมีความรุนแรงสูงสุดระหว่างช่วงเวลา 10.00 น. ถึง 16.00 น. ในช่วงฤดูร้อนคลื่นรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่มาถึงพื้นผิวโลกประกอบด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ตบีและรังสีอัลตราไวโอเล็ตเอร้อยละ 96.5 รังสีอัลตราไวโอเล็ตบีสามารถทำให้เกิด

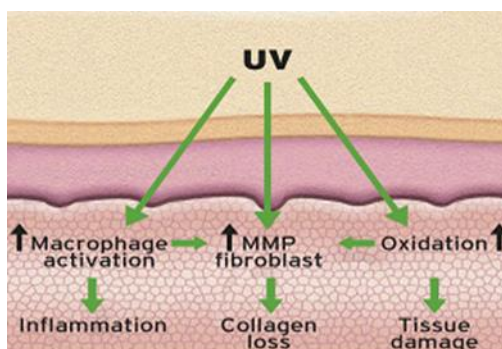
อาการแดดเผา (sunburn) ได้และก่อให้เกิดเป็นมะเร็งผิวหนังได้มากกว่ารังสีอัลตราไวโอเลตเอ (Korac & Khambholja, 2011)

รังสีอัลตราไวโอเลตซี (Ultraviolet C)

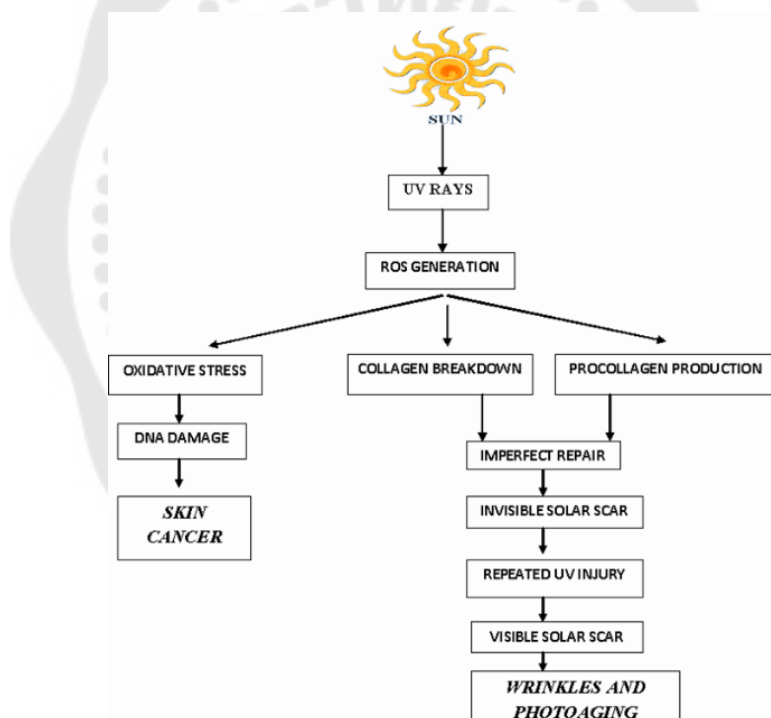
รังสีอัลตราไวโอเลตซีมีความยาวคลื่นที่สั้นที่สุดในช่วงระหว่างความยาวคลื่น 100 – 280 นาโนเมตร และมีพลังงานมากที่สุดเมื่อเทียบกับรังสีอัลตราไวโอเลตเอและรังสีอัลตราไวโอเลตบี แม้ว่ารังสีอัลตราไวโอเลตซีจะมีพลังงานมากที่สุดและมีศักยภาพในการทำลายทางชีวภาพมากที่สุด แต่จะถูกกรองด้วยชั้นโอโซนของชั้นบรรยากาศและไม่ถือว่าเป็นปัจจัยในการรับแสงอาทิตย์ของมนุษย์ (Korac & Khambholja, 2011)

การเกิดความเสื่อมสภาพของผิวหนังจากรังสีอัลตราไวโอเลต

ปฏิกิริยาของผิวหนังภายหลังสัมผัสรังสีอัลตราไวโอเลต คือ เกิดผื่นแดง มีอาการบวม อักเสบของผิวหนัง สูญเสียคอลลาเจน เนื้อเยื่อถูกทำลาย (A. K. Mishra et al., 2011) เม็ดสีคล้ำตามด้วยผิวคล้ำ เกิดความหนาของผิวหนังที่สัมผัส (Korac & Khambholja, 2011) ซึ่งเมื่อร่างกายสัมผัสกับรังสีอัลตราไวโอเลตจะทำให้เม็ดเลือดขาว macrophage เพิ่มขึ้น กระตุ้นทำให้เกิดภาวะอักเสบของเซลล์ผิวหนัง รวมถึงกระตุ้นเซลล์ MMP fibroblast ซึ่งจะทำให้เกิดการสูญเสียคอลลาเจนทั้งยังกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากขึ้น ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อมาก ดังแสดงในภาพประกอบที่ 1 และรังสีอัลตราไวโอเลตยังมีผลโดยตรงต่อสารอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species, ROS) ทำให้เกิดภาวะออกซิไดส์เกินสมดุล (oxidative stress) กระตุ้นให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์และเกิดเป็นมะเร็งผิวหนังได้ ทั้งยังทำให้เกิดความเสียหายกับคอลลาเจนและเกิดการสร้าง procollagen เพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดการซ่อมแซมเซลล์ได้ไม่สมบูรณ์ในช่วงแรกจะเกิดเป็นรอยแผลแต่ไม่สามารถมองเห็นได้ แต่พอผิวหนังได้สัมผัสรังสีอย่างต่อเนื่อง จะทำให้เกิดรอยแผลที่สามารถมองเห็นได้ ซึ่งจะเกิดเป็นริ้วรอยและเกิดความเสียหายต่อผิวหนังจากแสงแดด ดังแสดงในภาพประกอบที่ 2 สำหรับผลข้างเคียงของรังสีอัลตราไวโอเลตบี ที่มีผลต่อผิวหนังในระยะยาว คือ การลดภูมิคุ้มกันจากแสงแดดและการเกิดมะเร็งผิวหนังจากแสงแดด ภาวะผื่นแดงที่เกิดจากรังสีอัลตราไวโอเลตบี เกิดขึ้นจะคงอยู่ประมาณ 4 ชั่วโมงหลังจากสัมผัสกับรังสีและมีอาการปวด บวม อักเสบประมาณ 8 ถึง 24 ชั่วโมงและอาจหายไปภายในหนึ่งวัน ในคนทั่วไปและผู้สูงอายุอาการผื่นแดงจากการสัมผัสรังสีอัลตราไวโอเลตบีอาจเกิดเป็นแบบระยะยาวซึ่งบางครั้งเกิดขึ้นเป็นระยะเวลานานหลายสัปดาห์ (Korac & Khambholja, 2011)



ภาพประกอบ 1 กลไกการเกิดการอักเสบจากรังสีอัลตราไวโอเล็ต



ภาพประกอบ 2 ผลของ Reactive Oxygen Species ต่อผิวหนัง

ที่มา : (A. K. Mishra et al., 2011). Herbal Cosmeceuticals for Photoprotection from Ultraviolet B Radiation: A Review p.352-354

สารกันแดดในปัจจุบัน

สารกันแดดที่ใช้ในปัจจุบันแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ สารกันแดดทางกายภาพ (physical sunscreen) และสารกันแดดทางเคมี (chemical sunscreen) โดยที่สารกันแดดทางกายภาพมีคุณสมบัติสะท้อนกลับรังสีอัลตราไวโอเล็ตเมื่อมากระทบกับผิวหนัง ส่วนมากเป็นสารเคมีที่ไม่ได้มาจากธรรมชาติ เช่น ซิงค์ออกไซด์ ไทเทเนียมไดออกไซด์ และสารกันแดดทางเคมีจะมีคุณสมบัติช่วยดูดซับรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่มากระทบกับผิวหนังเพื่อลดผลกระทบที่เกิดขึ้นกับผิวหนัง สามารถแบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ สารกันแดดที่มีฤทธิ์ในการการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตเอ เช่น สารกลุ่ม benzene เช่น avobenzene, oxybenzone สารกันแดดที่มีฤทธิ์ในการการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตบี เช่น สารกลุ่ม cinnamate เช่น octinoxate, cinoxate สารกลุ่ม salicylates เช่น octocrylene, homosalate สารกลุ่มอนุพันธ์ของ PABA เช่น padimate O และสารกันแดดที่มีคุณสมบัติป้องกันได้ทั้งรังสีอัลตราไวโอเล็ตเอและรังสีอัลตราไวโอเล็ตบี (broad spectrum) เช่น ecamzule, silatriazole, bemotrizinol (Korac & Khambholja, 2011; Latha et al., 2013) ซึ่งพบว่ามีรายงานผลข้างเคียงจากการใช้สารเคมีกันแดดหลายประการ เช่น การเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนเอสโตรเจน กระตุ้นการทำงานของต่อมไทรอยด์ ทำให้เกิดอาการแพ้ (Krause et al., 2012)

เปราะหอม

เปราะหอม หรือ Kacholam, Kencur, Aromatic ginger (Raina & Abraham, 2015) มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Kaempferia galanga* L. เป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae พบในประเทศอินโดนีเซีย ประเทศจีน ไต้หวัน ประเทศกัมพูชา ประเทศอินเดียและประเทศไทย เปราะหอมเป็นไม้ล้มลุก ลำต้นเป็นเหง้าใต้ดินใช้รากสะสมอาหาร ใบเดี่ยวแทงขึ้นมาจากเหง้า ไม่มีก้านใบ ใบอยู่ใกล้พื้นดิน มักมีเพียง 2 ใบ ท้องใบมีขน ใบกลมแผ่ออกตามแนวข้าง ช่อดอกออกระหว่างใบทั้งสอง ไม่มีก้านช่อดอก ริวประดับรูปใบหอก ดอกสีชมพูอ่อนหรือขาว มีจุดสีม่วง ดังแสดงในภาพประกอบที่ 3 (ชยันต์ พิเชียรสุนทร, ศุภชัย ตียวรนนท์, & วิเชียร จีรวงศ์, 2555) พบการใช้เหง้าเปราะหอมในตำรายาอายุรเวทของอินเดียเพื่อปรุงเป็นยารักษากระษัยย่อยอาหาร รักษาโรคผิวหนัง ไข้ ไอ โรคไขข้อ หอบหืด สมานบาดแผล ความผิดปกติของต่อมลูกหมาก โรคลมบ้าหมู โรคริดสีดวงทวาร (Raina & Abraham, 2015) สรรพคุณของเปราะหอม ในส่วนเหง้ามีรสเผ็ดขม ใช้ในการขับลม แก้ท้องอืด แก้หวัด ใช้ประกอบอาหารชาวโอรังอัสลีในรัฐเประ ประเทศมาเลเซีย น้ำคั้นจากเหง้าใช้รักษาอาการปวดจากโรคกระเพาะอาหารและอาการไอ (Anbu Jeba Sunilson John Samuel, 2010) น้ำมันจากเหง้าเปราะหอมมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์และสามารถนำไปใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ

เชื้อจุลินทรีย์และโรคผิวหนังได้ (Athikomkulchai, 2007; Raina & Abraham, 2015) และยังพบการใช้เหง้าเปราะหอมในเครื่องสำอางสำหรับบำรุงผิวและป้องกันริ้วรอยก่อนวัยในพม่าซึ่งเป็นสมุนไพรที่ใช้มาอย่างช้านาน (Narayanaswamy & Ismail, 2015)



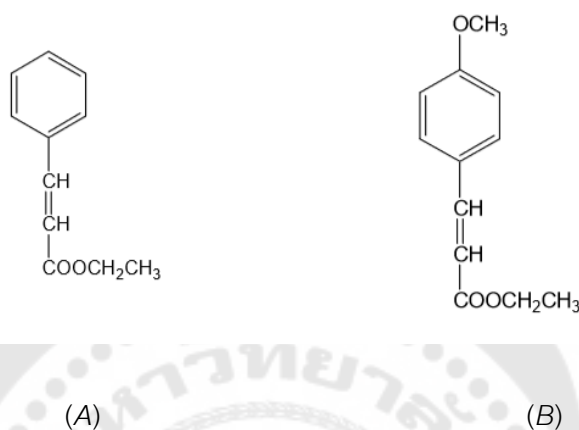
ภาพประกอบ 3 เหง้าเปราะหอม

สารสำคัญในเปราะหอม

เปราะหอมเป็นสมุนไพรที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ นำมาทำเป็นยา รักษาโรคต่าง ๆ โดยใช้ทั้งในรูปแบบวัตถุดิบสด แห้งและสารสกัดเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์ในรูปแบบที่แตกต่างกันไป นิยมสกัดเปราะหอมด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) ซึ่งพบว่าได้สารสกัดในรูปของน้ำมันหอมระเหยเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งมีสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ trans-ethyl-p-methoxycinnamate ร้อยละ 28.4–70.0 และ trans-ethyl cinnamate ร้อยละ 11.5 – 26.6 เป็นสารหลักที่พบในน้ำมันเปราะหอม นอกจากนี้ น้ำมันเปราะหอมยังประกอบด้วยสารอื่น เช่น δ-3-carene, 1,8-cineole borneol, pentadecane (Raina & Abraham, 2015)

สำหรับสารสำคัญในน้ำมันเปราะหอมที่มีฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเลต พบว่าเป็นสาร ethyl cinnamate และ ethyl p-methoxycinnamate ดังแสดงในภาพประกอบที่ 4 เป็นกลุ่มสารที่พบมากที่สุด โดยพบ ethyl cinnamate ร้อยละ 29.56 และ ethyl-p-methoxycinnamate สูงถึงร้อยละ 43.35 ของน้ำมันที่สกัดได้ การศึกษาประสิทธิภาพในการป้องกันแดดของครีมผสมน้ำมันเหง้าเปราะหอมร้อยละ 7 พบว่ามีค่า SPF เท่ากับ 4.69 (Athikomkulchai, 2007) ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้เป็นสารในกลุ่มฟินอลที่พบได้มากในเหง้าของเปราะหอม คิดเป็นอัตราส่วนถึงร้อยละ 72.91

ของสารทั้งหมด ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) และยังมีฤทธิ์เป็นสารต้านมะเร็งอีกด้วย (Raina & Abraham, 2015)



ภาพประกอบ 4 (A) ethyl cinnamate และ (B) ethyl p-methoxycinnamate

การทดสอบความเป็นพิษของเปราะหอมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องของเปราะหอม

ในการทดสอบพิษเฉียบพลันของสารสกัดเหง้าด้วยเอทานอลร้อยละ 50 โดยให้หนูกินในขนาด 10 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมและให้โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังขนาด 10 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมในหนู ตรวจไม่พบอาการเป็นพิษ (กระทรวงสาธารณสุข, 2003) และจากการทดสอบพิษเฉียบพลันของสารสกัดเอทานอลจากเหง้าเปราะหอม โดยให้สารสกัดขนาด 5 กรัม/กิโลกรัม แก่หนูแรท ครั้งเดียว ไม่พบการตาย หรือการเกิดพิษใดต่อร่างกาย รวมทั้งอวัยวะและเนื้อเยื่อ ในการทดสอบพิษกึ่งเฉียบพลัน โดยให้สารสกัดขนาด 25, 50 และ 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ทุกวัน เป็นเวลา 28 วัน ผลการศึกษาไม่พบความผิดปกติของน้ำหนักตัว อวัยวะและเนื้อเยื่อ ค่าชีวเคมีในเลือด และระดับเอนไซม์ตับปกติ แต่การให้ในขนาด 50 และ 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่าทำให้ระดับ lymphocyte (เม็ดเลือดขาว) ลดลง ในการศึกษาด้านพิษวิทยาของสารสกัดเปราะหอม โดยการศึกษาด้านการระคายเคืองต่อผิวหนัง โดยใช้สารสกัดเฮกเซนจากเหง้าเปราะหอม ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ทาบนผิวหนังกระต่าย เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเช็ดออก จากนั้นสังเกตอาการบวมแดง ที่ผิวหนัง ตั้งแต่เวลา 30-60 นาที หลังให้สารทดสอบ และหลังจากนั้นอีก 24, 48, 72 ชั่วโมง พบว่าไม่เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังในช่วงเวลาที่ทดสอบ

(Kanjapothi et al., 2004) ส่วนของน้ำมันจากเหง้าเปราะหอมพบว่ามีฤทธิ์ต้านอาการแพ้ (Tewtrakul & Subhadhirasakul, 2007) และยังไม่พบรายงานอาการระคายเคืองต่อผิวหนัง

การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปราะหอม

การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร ได้แก่ วิธีการกลั่น (distillation) เช่น water distillation ซึ่งเป็นการกลั่นด้วยน้ำร้อนกับสมุนไพร วิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) เป็นการกลั่นด้วยไอน้ำซึ่งระเหยผ่านสมุนไพร วิธีการสกัดโดยใช้ไขมัน (enfleurage) วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) ที่ใช้สารทำละลายมาช่วยสกัดน้ำมัน วิธีการบีบอัด (expression) ที่ใช้การเพิ่มแรงกดบีบอัดเพื่อสกัดน้ำมันจากสมุนไพร และวิธีใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหลวใน ความความดันสูง (supercritical fluid extraction) การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรโดยส่วนมาก นิยมสกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) เนื่องจากเป็นกระบวนการที่ทำได้ง่าย ได้ น้ำมันหอมระเหยที่มีคุณภาพ โดยใช้หลักการในการให้ความร้อนกับสมุนไพรผ่านตัวกลางที่เป็นน้ำ จนเกิดเป็นไอน้ำขึ้นมา โดยที่น้ำและน้ำมันจากสมุนไพรจะระเหยขึ้นมาด้านบน หลังจากนั้นไอน้ำ จะเกิดการควบแน่นโดยการให้ความเย็นผ่านชุดควบคุมความเย็น (condenser) หลังจากนั้นน้ำ และน้ำมันที่ควบแน่นจะตกลงมาที่ชุดอุปกรณ์แยกน้ำมัน (cleverger) และเกิดการแยกชั้นระหว่าง น้ำกับน้ำมันเนื่องจากค่าความหนาแน่นที่แตกต่างกัน และใช้ชุดอุปกรณ์แยกน้ำมัน (cleverger) ในการแยกน้ำและน้ำมันออกจากกัน จนได้เป็นสารสกัดน้ำมันจากสมุนไพรและใช้สาร Na_2SO_4 ในการดูดซับน้ำที่ผสมในน้ำมันเพื่อให้ได้น้ำมันที่บริสุทธิ์ (Athikomkulchai, 2007; A. Mishra, Mishra, & Chattopadhyay, 2012)

ไมโครอิมัลชัน

ไมโครอิมัลชัน (microemulsion) เป็นรูปแบบการนำส่งยาที่มีการกระจายตัวที่มีความเสถียรทางอุณหพลศาสตร์ (thermodynamically stable) ของของเหลวสองชนิดที่ไม่สามารถละลายเข้ากัน ซึ่งถูกทำให้เสถียรโดยสารลดแรงตึงผิว แบ่งออกเป็นสามประเภท คือ น้ำมันในน้ำ (o/w) น้ำในน้ำมัน (w/o) และไมโครอิมัลชันชนิด bicontinuous microemulsions ลักษณะทางกายภาพของไมโครอิมัลชันจะมีลักษณะโปร่งแสงหรือโปร่งใส มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 10 – 100 นาโนเมตร (Burguera & Burguera, 2012) ซึ่งส่วนประกอบหลักของไมโครอิมัลชันจะมี 3 ส่วน คือ วัฏภาคน้ำ (water phase) วัฏภาคน้ำมัน (oil phase) สารลดแรงตึงผิว (surfactant) รวมถึง สารลดแรงตึงผิวร่วม (co-surfactant) ซึ่งประโยชน์ของไมโครอิมัลชันคือช่วยทำให้ตำรับน้ำมันมี

ความคงสภาพมากขึ้น ลดความเสี่ยงสภาพและสามารถยืดอายุของผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น (Liu et al., 2013)

การทดสอบฤทธิ์ในการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของน้ำมันเหง้าเปราะหอมและไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม

การทดสอบค่าการป้องกันแสงอัลตราไวโอเล็ต (photoprotection test) โดยการใช้เครื่อง ultraviolet transmittance analyzer โดยที่เครื่องนี้สามารถวัดค่ารังสีอัลตราไวโอเล็ตในช่วงความยาวคลื่น 250 – 450 nm ได้ และเป็นเครื่องมือที่สามารถใช้สำหรับทดสอบหาค่า SPF และค่า critical wavelength ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว คำนวณค่าการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้ด้วยค่า sun protection factor (SPF) ตามสูตรคำนวณ ดังนี้

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

โดยที่ EE คือ erythemal effect spectrum

I คือ solar intensity spectrum

Abs คือ absorbance of sunscreen product

CF คือ correction factor (มีค่า=10)

ซึ่งค่าของ EE × I เป็นค่าที่วัดได้โดย (Sayre, 1979) ซึ่งแสดงค่าดังตารางที่ 1 ดังนี้

ตาราง 1 แสดงค่า EE × I ในความยาวคลื่นต่าง ๆ

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่า EE × I
290	0.0150
295	0.0817
300	0.2874
305	0.3274
310	0.1864

ตาราง 1 (ต่อ)

ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ค่า EE × I
315	0.0839
320	0.0180
รวม	1.0000

หลังจากคำนวณได้ค่า SPF แล้วจึงนำมาแปลผลค่าการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตปีได้ดังแสดงในตารางที่ 2

ตาราง 2 แสดงค่าการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตปี

ระดับ	SPF	การป้องกัน รังสีอัลตราไวโอเล็ตปี (%)
ต่ำ	2 ถึง น้อยกว่า 15	50 – 92 %
ปานกลาง	15 ถึง น้อยกว่า 30	93 – 95 %
สูง	30 ถึง 50	96 – 97 %
สูงมาก	มากกว่า 50	มากกว่า 98 %

ค่า critical wavelength (CW) เป็นค่าความยาวคลื่นที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพในการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตเอ (UVA) ได้ 90 เปอร์เซ็นต์เมื่อคิดจากพื้นที่ใต้กราฟโดยประเมินจากแสงในช่วงความยาวคลื่นที่ 290-450 นาโนเมตร ซึ่งครอบคลุมช่วงความยาวคลื่นทั้งรังสีอัลตราไวโอเล็ตเอและรังสีอัลตราไวโอเล็ตบี โดยกำหนดให้ใช้ค่า critical wavelength จะต้องมียค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 370 นาโนเมตร ($CW \geq 370 \text{ nm}$) (Lionetti & Rigano, 2017) สามารถแสดงค่าได้จากการวัดด้วยเครื่อง ultraviolet transmittance analyzer

เอสเซนส์

เอสเซนส์ (essence) เป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบของเหลวที่มีคุณลักษณะสำคัญ คือ มีปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญที่สูง ส่งผลให้สารสำคัญในตำรับสามารถออกฤทธิ์ได้อย่างเต็มประสิทธิภาพและเห็นผลได้รวดเร็ว พบในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เอสเซนส์มีองค์ประกอบหลักเป็นน้ำ (aqueous phase) สารสำคัญในเอสเซนส์ต้องละลายน้ำได้ดี หลักการเตรียมเอสเซนส์จะใช้สารสำคัญในปริมาณที่มากและผสมสารที่มีคุณสมบัติเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวแห้ง เช่น glycerin, butylene glycol, propylene glycol หรือสารกลุ่ม polymer (Sugibayashi, Todo, & Oda, 2016) เพื่อช่วยทำให้ผิวแห้งมีความชุ่มชื้นหลังการใช้ นอกจากนี้สารเพิ่มความชุ่มชื้นเหล่านี้ยังช่วยทำให้เอสเซนส์มีความหนืดเพิ่มขึ้น ยึดเกาะกับผิวได้ดีและไม่เลวจนเกินไป ทำให้ใช้ง่ายขึ้น เนื่องจากถ้าผลิตภัณฑ์อยู่ในรูปของน้ำจะนำมาใช้ได้ยากเพราะมีการไหลรวดเร็วเกินไปทำให้ไม่เหมาะนำมาใช้ทันที ข้อดีของวิธีนี้คือเหมาะกับตำรับที่ต้องการใส่สารสำคัญในปริมาณมากเพื่อประสิทธิภาพสูงสุดของตำรับ ข้อเสียของวิธีนี้คือจำเป็นต้องใช้สารสำคัญหรือสารสกัดในปริมาณที่สูงมากจึงทำให้ต้นทุนในการผลิตสูงทำให้ผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดมีราคาแพง

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์

1. ปีกเกอร์ (beaker) ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. ปีกเกอร์ (beaker) ขนาด 250 มิลลิลิตร
3. หลอดทดลอง (test tube) ขนาด 20 มิลลิลิตร
4. ชุดหล่อเย็น (condenser)
5. อ่างทำความเย็น (low constant temperature bath)
6. ชุดกลั่นน้ำมัน (cleverger apparatus)
7. เครื่องให้ความร้อนแบบหุ้ม (heating mantle)
8. เครื่องปั่น (blender)
9. โกร่ง (mortar)
10. ขวดทรงกลมขนาด 5 ลิตร (round bottom flask, 5L.)
11. ชุดเชื่อมต่อระหว่างขวดทรงกลมกับชุดกลั่นน้ำมัน (reduction adapter)
12. ขาตั้งเหล็ก 2 ชุด (stainless stand, 2 pieces)
13. ขวดสีชาสำหรับเก็บน้ำมันหอมระเหย (amber vial)

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง บริษัท Sartorius รุ่น BP221S ประเทศเยอรมนี
2. เครื่อง Vortex mixer บริษัท Scientific Industries รุ่น G560E ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. เครื่องวัดขนาดอนุภาคและความต่างศักย์บนผิวอนุภาค zetasizer บริษัท Malvern รุ่น Nano ZS ประเทศอังกฤษ
4. เครื่อง UV-Visible spectrophotometer รุ่น UV-1601 บริษัท Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น
5. เครื่อง Ultraviolet transmittance analyzer บริษัท labsphere รุ่น UV-2000S ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. กล้องจุลทรรศน์ บริษัท Olympus รุ่น BX53 ประเทศญี่ปุ่น

7. เครื่อง Rheometer บริษัท Thermo Fisher Scientific รุ่น HAAKE RheoStress 1
ประเทศสหรัฐอเมริกา

8. เครื่อง pH meter บริษัท Thermo Fisher Scientific รุ่น orion model 320 ประเทศ
สหรัฐอเมริกา

วัตถุดิบและสารเคมี

1. เหน้ําเปราะหอม บริษัทเวชพงศ์โอสถ ประเทศไทย
2. เอทิลแอลกอฮอล์ (commercial grade) บริษัท อาร์ซีไอ แลบบอแรท ประเทศไทย
3. โซเดียมซัลเฟต บริษัท UNIVAR ประเทศสหรัฐอเมริกา
4. Tween 80® บริษัท Namsiang company limited ประเทศไทย
5. Propylene glycol บริษัท Namsiang company limited ประเทศไทย
6. สารมาตรฐาน Ethyl cinnamate บริษัท Sigma-aldrich® corporation ประเทศเยอรมัน
7. Brilliant blue บริษัท Myskinrecipes ประเทศไทย
8. Sudan IV บริษัท Myskinrecipes ประเทศไทย
9. Phenoxyethanol บริษัท Myskinrecipes ประเทศไทย
10. Tocopherol acetate (vitamin E) บริษัท Myskinrecipes ประเทศไทย
11. Sodium carboxy methyl cellulose (SCMC) บริษัท T.C.Sathaporn Group Ltd.,
Part. ประเทศไทย
12. Hyaluronic acid (HA) บริษัท Myskinrecipes ประเทศไทย

วิธีดำเนินงานวิจัย

การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าเปราะหอม

1. นำเหง้าเปราะหอมแห้งมาทำการลดขนาดโดยใช้โกร่งตำพอแหลก
2. บรรจุเหง้าเปราะหอมแห้งน้ำหนัก 300 กรัม ลงใน round bottom flask ขนาด 5 ลิตร
เติมนํ้ากลั่น 3 - 3.5 ลิตร แล้วกลั่นด้วยนํ้าโดยอาศัย Clevenger apparatus
3. กลั่นน้ำมันเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมงหรือจนกว่าปริมาณน้ำมันจะไม่เพิ่มขึ้น
4. เทน้ำมันหอมระเหยลงในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้นแล้วใช้หลอดหยดดูดชั้น
น้ำมันหอมระเหยออกจากชั้นนํ้า บรรจุลงในขวดสีชา
5. เติมโซเดียมซัลเฟตเพื่อดูดซับนํ้าที่ปนมากับน้ำมัน บรรจุน้ำมันในขวดสีชา เก็บที่
อุณหภูมิ 2 - 8 องศาเซลเซียส

6. คำนวณหา % yield ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่กลั่นได้คิดเป็น %w/w โดยคำนวณจากสูตรต่อไปนี้

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{น้ำหนักของน้ำมันเปราะหอมที่สกัดได้ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของเหง้าเปราะหอมแห้ง (กรัม)}} \times 100$$

การวิเคราะห์หาสารสำคัญในน้ำมันเหง้าเปราะหอมด้วยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

วิเคราะห์หาสารสำคัญในน้ำมันเหง้าเปราะหอมซึ่งผู้วิจัยโดยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) เพื่อศึกษาองค์ประกอบของสารในน้ำมันหอมระเหยโดยใช้หลักการเปรียบเทียบเลขมวล (Mass Number) ของสารตัวอย่างที่นำมาทดสอบกับข้อมูลที่มีอยู่ในฐานข้อมูล เทคนิคนี้ยังสามารถใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative Analysis) และเชิงคุณภาพ (Qualitative Analysis) ได้จึงเหมาะสมแก่การนำมาวิเคราะห์หาสารสำคัญในน้ำมันเหง้าเปราะหอมโดยที่ผู้วิจัยได้นำน้ำมันเหง้าเปราะหอม 500 ไมโครลิตร นำส่งตรวจวิเคราะห์ที่คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งทดสอบโดยใช้เครื่อง Gas chromatographer บริษัท Agilent รุ่น Model 7890 B และเครื่อง Mass spectrometer บริษัท Agilent รุ่น Model 5977 B โดยที่เตรียมละลายตัวอย่าง 9.6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรในเฮกเซน ภาวะในการทดสอบที่อุณหภูมิ 280 องศาเซลเซียส ฉีดตัวอย่างที่ 0.5 ไมโครลิตร ใช้ Column รุ่น HP-5M5 UI (60 มิลลิเมตร x 0.25 มิลลิเมตร, ฟิล์มหนา 0.25 ไมโครเมตร) Column flow ใช้ฮีเลียม (He) ที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิในตู้อบที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 นาทีและเพิ่มเป็น 180 องศาเซลเซียส (เพิ่ม 10 องศาเซลเซียสต่อนาที)เป็นเวลา 1 นาที และเพิ่มถึง 280 องศาเซลเซียส(เพิ่ม 20 องศาเซลเซียสต่อ นาที) โดยใช้เวลาฉีดทั้งหมด 39 นาที ในการทดสอบของ Mass spectrometer จะทดสอบหาค่า MSD และ Scan mass ที่ 30-550 amu

การทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของน้ำมันเหง้าเปราะหอม

ทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตด้วยเครื่อง ultraviolet transmittance analyzer รุ่น UV-2000S ของสำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย ซึ่งมีขั้นตอนการทดสอบ ดังนี้

1. ปิเปตน้ำมันเหง้าเปราะหอมใส่ใน Polymethyl methacrylate plate (PMMA plate) ปริมาณ 0.0287 ± 0.005 กรัม ซึ่งชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

2. หลังจากนำสารตัวอย่างใส่แล้วใช้นิ้วมือที่สวมถุงมืออย่างกระจายสารตัวอย่างให้ทั่ว PMMA plate
3. นำ PMMA plate วางที่เครื่อง UV-2000S ultraviolet transmittance analyzer โดยตั้งค่าความยาวคลื่นที่ใช้วัดการดูดกลืนแสงที่ช่วง 290 – 450 นาโนเมตร กดเริ่มทำการทดสอบ
4. เครื่องจะแสดงค่า sun protection factor ที่วิเคราะห์ได้โดยวัดค่าทั้งหมด 3 ซ้ำ นำมาหาค่าเฉลี่ย บันทึกผล

การวิเคราะห์ปริมาณสาร ethyl cinnamate ด้วยเทคนิค UV-visible spectrophotometry

1. ละลายสารมาตรฐาน ethyl cinnamate ใน dimethyl Sulfoxide (DMSO) โดยปิเปตน้ำมันปริมาตร 10 ไมโครลิตร เติมลงใน DMSO ปริมาตร 990 ไมโครลิตร เจือจางให้มีความเข้มข้นลดลงแบบ 2 เท่า (two-folded serial dilution) ใน DMSO ให้มีช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ช่วงความเข้มข้น 0.00006 – 1 % v/v
2. หาความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของสารมาตรฐาน ethyl cinnamate ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ในช่วงความยาวคลื่น 200 – 400 นาโนเมตร
3. วัดการดูดกลืนแสงของน้ำมันเหง้าเปราะหอมด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงมากที่สุด ในช่วงความเข้มข้น 0.00006 – 1 % v/v นำค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟเส้นตรงเพื่อความสัมพันธ์เชิงเส้น
4. ละลายน้ำมันเหง้าเปราะหอมใน DMSO โดยปิเปตน้ำมันปริมาตร 10 ไมโครลิตร เติมลงใน DMSO ปริมาตร 990 ไมโครลิตร เจือจางให้มีความเข้มข้นลดลงแบบ 2 เท่า (two-folded serial dilution) ใน DMSO ให้มีช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ช่วงความเข้มข้น 0.00006 - 1 %v/v
5. วัดการดูดกลืนแสงของน้ำมันเหง้าเปราะหอมด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ค่า λ_{max} ของสาร ethyl cinnamate ในช่วงความเข้มข้น 0.00006 – 1 % v/v นำค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความเข้มข้นมาแทนค่ากราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นเพื่อหาปริมาณสาร ethyl cinnamate ที่มีในตำรับ

การเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม

หาอัตราส่วนขององค์ประกอบที่เหมาะสมผ่านแผนภาพไตรวัฏภาคเทียม (pseudo-ternary phase diagram) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้แสดงสัดส่วนของตำรับไมโครอิมัลชันได้อย่างชัดเจน โดยวิเคราะห์อัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำมันเหง้าเปราะหอม สารลดแรงตึงผิวและน้ำในตำรับ โดย

ควบคุมปริมาตรน้ำมันเหง้าเปราะหอมและสารลดแรงตึงผิวให้คงที่ หลังจากนั้นเติมน้ำในสัดส่วนที่คงที่ไปจนถึงปริมาตรที่กำหนดเพื่อทดสอบความขุ่นและการตกตะกอนของตำรับ และนำสัดส่วนของตำรับที่มีความโปร่งใสบันทึกลงในแผนภาพไตรวัฏภาคเทียมเพื่อศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมต่อคุณสมบัติของไมโครอิมัลชัน ในการเตรียมไมโครอิมัลชันจะใช้สารลดแรงตึงผิวคือ Tween 80[®] และใช้สารลดแรงตึงผิวร่วมคือ propylene glycol อัตราส่วนระหว่าง Tween 80[®] ต่อ propylene glycol ที่ใช้ในการทดลองเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอมได้แก่ 1:0, 1:1, 1:2 และ 1:3 วิธีการเตรียมคือนำน้ำมันเหง้าเปราะหอมมาผสมกับสารลดแรงตึงผิว ในอัตราส่วนของน้ำมันเหง้าเปราะหอมต่อสารลดแรงตึงผิวเท่ากับ 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 และ 9:1 ผสมในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตรให้เข้ากันด้วย vortex เป็นเวลา 15 วินาที องค์ประกอบของไมโครอิมัลชันและอัตราส่วนแสดงในตารางที่ 3 จากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออนลงไปน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่ผสมสารลดแรงตึงผิวแล้วครั้งละ 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex เป็นเวลา 15 วินาทีแล้วสังเกตความขุ่นและการตกตะกอน ซึ่งจะผสมน้ำ 100 ไมโครลิตร ทั้งหมด 10 ครั้งจนครบ 1,000 ไมโครลิตรแล้วเติมน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ทั้งหมด 10 ครั้งจนครบ 10,000 ไมโครลิตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วสังเกตความใส ความขุ่นและการตกตะกอน โดยถ้าสารมีความใสจะแสดงดังเครื่องหมาย / ถ้าขุ่นหรือตกตะกอนจะแสดงดังเครื่องหมาย x



ตาราง 3 องค์ประกอบของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอมและอัตราส่วนของ
องค์ประกอบ

ตัว อย่าง	น้ำมันเหง้า เปราะหอม (μl)	สารลด แรงตึงผิว (μl)	น้ำ (μl)	ปริมาตร รวม (μl)	น้ำมันเหง้า เปราะหอม (%)	สารลด แรงตึง ผิว (%)	น้ำ (%)
1	100	900	100	1100	9.09	81.82	9.09
2	100	900	200	1200	8.33	75.00	16.67
3	100	900	300	1300	7.69	69.23	23.08
4	100	900	400	1400	7.14	64.29	28.57
5	100	900	500	1500	6.67	60.00	33.33
6	100	900	600	1600	6.25	56.25	37.50
7	100	900	700	1700	5.88	52.94	41.18
8	100	900	800	1800	5.56	50.00	44.44
9	100	900	900	1900	5.26	47.37	47.37
10	100	900	1000	2000	5.00	45.00	50.00
11	100	900	2000	3000	3.33	30.00	66.67
12	100	900	3000	4000	2.50	22.50	75.00
13	100	900	4000	5000	2.00	18.00	80.00
14	100	900	5000	6000	1.67	15.00	83.33
15	100	900	6000	7000	1.43	12.86	85.71
16	100	900	7000	8000	1.25	11.25	87.50
17	100	900	8000	9000	1.11	10.00	88.89
18	100	900	9000	10000	1.00	9.00	90.00
19	100	900	10000	11000	0.91	8.18	90.91

การศึกษาชนิดของไมโครอิมัลชัน

ในการศึกษาชนิดของไมโครอิมัลชันว่าเป็นชนิดน้ำในน้ำมัน (w/o microemulsion) หรือชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w microemulsion) สามารถทดสอบได้ด้วยวิธี dye solubility test โดยใช้สีที่ละลายในน้ำ (water-soluble dye) คือ Brilliant blue และสีที่ละลายในน้ำมัน (oil-soluble dye) คือ Sudan IV ซึ่งสีทั้งสองชนิดจะละลายและซึมลงไปไมโครอิมัลชัน ขั้นตอนการทดสอบเริ่มจากการหยดไมโครอิมัลชันปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงบนกระจกสไลด์และนำสีที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ สีละลายน้ำ Brilliant blue หรือสีละลายน้ำมัน Sudan IV ปริมาตร 1 มิลลิลิตรหยดผสมกับไมโครอิมัลชันผสมให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วคนสาร หลังจากนั้นสังเกตการย้อมสีของไมโครอิมัลชันหลังผสมกับ Brilliant blue หรือ Sudan IV ผ่านกล้องจุลทรรศน์รุ่น Olympus BX53 ที่กำลังขยาย 10 เท่า ถ้าพบการย้อมสีฟ้าของ Brilliant blue ในอนุภาคไมโครอิมัลชันแสดงว่าตัวรับนี้เป็นไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (w/o microemulsion) แต่ถ้าพบการย้อมสีแดงของ Sudan IV ในอนุภาคไมโครอิมัลชันแสดงว่าตัวรับนี้เป็นไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w microemulsion) (Xu, 2010)

การศึกษาความคงสภาพทางกายภาพของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม

นำไมโครอิมัลชันสูตรที่คัดเลือกซึ่งมีปริมาณน้ำมันเหง้าเปราะหอมในตำรับมากที่สุดและยังคงความใส มาทดสอบความคงสภาพทางกายภาพของตำรับไมโครอิมัลชันโดยการวัดขนาดอนุภาค (size) การกระจายของขนาดอนุภาค (polydispersity index; Pdl) และค่าศักย์ซีต้า (zeta potential) ด้วยเครื่อง zetasizer ขั้นตอนในการศึกษาเริ่มด้วยการปิเปตไมโครอิมัลชันมา 10 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง (microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร และเติมน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 990 ไมโครลิตร (ความเข้มข้นของไมโครอิมัลชันเท่ากับ 0.01 %) ผสมด้วย vortex 15 วินาทีและนำไปวัดค่าด้วย microcuvette โดยวัด ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บตำรับไมโครอิมัลชันไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นเมื่อครบ 14, 28, 42 และ 56 วัน นำตัวอย่างของไมโครอิมัลชันมาวัดขนาดอนุภาค การกระจายของขนาดอนุภาคและค่าศักย์ซีต้า หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทดสอบทางสถิติเพื่อหาความแตกต่างของค่าที่ได้เปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น

การศึกษาความคงสภาพทางเคมีของไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม

ทดสอบความคงสภาพทางเคมีของไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอมโดยการวิเคราะห์หาปริมาณสาร ethyl cinnamate ในตำรับไมโครอิมัลชันที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 14, 28, 42 และ 56 วัน ปิเปตสารมาตรฐาน ethyl cinnamate

ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เติมลงใน DMSO ปริมาตร 990 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex เจือจางให้มีความเข้มข้นลดลงแบบ 2 เท่า (two-folded serial dilution) ใน DMSO ให้มีช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ช่วงความเข้มข้น 0.00006 – 1 %v/v ซึ่งนำไปวัดเพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานด้วยเทคนิค UV-visible spectrophotometer นำค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟเส้นตรงเพื่อความสัมพันธ์เชิงเส้น หลังจากได้กราฟเส้นตรงที่เหมาะสมแล้ว ปิเปตไมโครอิมัลชันปริมาตร 10 ไมโครลิตร เติมลงใน DMSO ปริมาตร 990 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex เจือจางให้มีความเข้มข้นลดลง 1000 เท่า ใน DMSO โดยให้มีความเข้มข้น 0.001 %v/v ซึ่งเป็นช่วงค่าความเข้มข้นของสมการเส้นตรงวัดค่าด้วยเทคนิค UV-visible spectrophotometer เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสาร ethyl cinnamate ที่เหลืออยู่ในตำรับไมโครอิมัลชันในทีเวลาและอุณหภูมิที่ต่างกัน

การทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม

ในการทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของไมโครอิมัลชันจะวัดค่าด้วยเครื่อง ultraviolet transmittance analyzer เพื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่เวลาและอุณหภูมิที่ต่างกัน ซึ่งมีขั้นตอนการทดสอบ ดังนี้

1. ปิเปตไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอมใส่ใน PMMA plate ปริมาณ 0.0287 ± 0.005 กรัมซึ่งชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
2. หลังจากนำสารตัวอย่างใส่แล้ว ใช้นิ้วมือที่สวมถุงมืออย่างกระจ่ายสารตัวอย่างให้ทั่ว PMMA plate ที่จะทดสอบ
3. นำ PMMA plate วางที่เครื่อง UV-2000S ultraviolet transmittance analyzer โดยตั้งค่าความยาวคลื่นที่ใช้วัดการดูดกลืนแสงที่ช่วง 290 – 450 นาโนเมตร กดเริ่มทำการทดสอบ
4. เครื่องจะแสดงค่า sun protection factor ที่วิเคราะห์ได้โดยวัดค่าทั้งหมด 3 ซ้ำนำมาหาค่าเฉลี่ย บันทึกผล

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม

ในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตำรับเอสเซนส์ที่มีความคงสภาพดี สามารถซึมสู่ผิวได้ง่ายไม่เหนียวเหนอะหนะ ซึ่งผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอมประกอบด้วย 3 ภูมิภาค คือ ภูมิภาคน้ำ ภูมิภาคน้ำมันและสารลดแรงตึงผิวโดยสูตรตำรับผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ซึ่งแสดงในตารางที่ 4

ตาราง 4 องค์ประกอบของเอสเซนส์ผสมไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม

ส่วนประกอบ	ปริมาณที่ใช้ (คิดเป็น %)	หน้าที่ในตำรับ
Microemulsion	85.0	Active ingredient
1% Sodium carboxy methyl cellulose (SCMC), 1% pro polymer (Acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer)	14.0	Thickening agent
1% Hyaluronic acid (HA)		
Phenoxyethanol	0.5	Preservative
Tocopherol acetate	0.5	Antioxidant
รวม	100.0	

ขั้นตอนการเตรียมตำรับผลิตภัณฑ์เอสเซนส์

1. เตรียมไมโครอิมัลชันที่ได้มีอัตราส่วนของน้ำมันเหง้าเปราะหอมมากที่สุดด้วยวิธี titration method โดยจากการศึกษาพบว่าสูตรที่มีน้ำมันเหง้าเปราะหอมในปริมาณมากที่สุดได้แก่ สูตรที่มีอัตราส่วนของน้ำมัน ต่อ Tween 80® และน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 3:7:1
2. เตรียมพอลิเมอร์ คือ 1% w/w Sodium carboxy methyl cellulose (SCMC), 1.5% w/w SCMC, 2% w/w SCMC, 3% w/w SCMC, 4% w/w SCMC, 5% w/w SCMC, 1% w/w Propolymer (Acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer), 2% w/w Propolymer โดยค่อย ๆ ใส่ SCMC หรือ Propolymer ลงในน้ำที่ละน้อย ๆ เพื่อให้ SCMC หรือ Propolymer ค่อย ๆ ละลายเข้ากับน้ำ
3. เตรียม 1% w/w hyaluronic acid โดยค่อย ๆ โปริย hyaluronic acid ลงในน้ำที่ละน้อย ๆ เพื่อให้ค่อย ๆ ละลายเข้ากับน้ำ
4. นำไมโครอิมัลชันที่ได้มาผสมกับพอลิเมอร์ในอัตราส่วนที่กำหนด คนผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน

5. ผสม Phenoxyethanol และ Tocopherol acetate ในสัดส่วนที่กำหนดคนผสมให้เข้ากัน
ในตำรับ
6. ปรับสัดส่วนตำรับเอสเซนส์เพื่อหาตำรับที่เหมาะสมทางกายภาพ ดังแสดงในตารางที่ 5-8
7. บรรจุลงในบรรจุภัณฑ์ สังเกตความใส ความขุ่นและการตกตะกอนด้วยตาเปล่า วัดค่า
ความหนืด ค่า pH ของตำรับ บันทึกผลของตำรับเอสเซนส์



ตาราง 5 สูตรตำรับผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม (สูตร 1-3)

ส่วนประกอบ	สูตร 1 (%)	สูตร 2 (%)	สูตร 3 (%)	หน้าที่ในตำรับ
ไมโครอิมัลชันจากเหง้าเปราะหอม	85	85	85	Active ingredient
1% w/w SMC	14	-	-	Thickening agent
1.5% w/w SMC	-	14	-	Thickening agent
2% w/w SMC	-	-	14	Thickening agent
3% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
4% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
5% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
1% w/w Propolymer	-	-	-	Thickening agent
2% w/w Propolymer	-	-	-	Thickening agent
1% w/w Hyaluronic acid	-	-	-	Thickening agent
Phenoxyethanol	0.5	0.5	0.5	Preservative
Tocopherol acetate	0.5	0.5	0.5	Antioxidant
รวม	100.0	100.0	100.0	

ตาราง 6 สูตรตำรับผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม (สูตร 4-6)

ส่วนประกอบ	สูตร 4 (%)	สูตร 5 (%)	สูตร 6 (%)	หน้าที่ในตำรับ
ไมโครอิมัลชันจากเหง้าเปราะหอม	85	85	85	Active ingredient
1% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
1.5% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
2% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
3% w/w SMC	14	-	-	Thickening agent
4% w/w SMC	-	14	-	Thickening agent
5% w/w SMC	-	-	14	Thickening agent
1% w/w Propolymer	-	-	-	Thickening agent
2% w/w Propolymer	-	-	-	Thickening agent
1% w/w Hyaluronic acid	-	-	-	Thickening agent
Phenoxyethanol	0.5	0.5	0.5	Preservative
Tocopherol acetate	0.5	0.5	0.5	Antioxidant
รวม	100.0	100.0	100.0	

ตาราง 7 สูตรตำรับผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม (สูตร 7-9)

ส่วนประกอบ	สูตร 7 (%)	สูตร 8 (%)	สูตร 9 (%)	หน้าที่ในตำรับ
ไมโครอิมัลชันจากเหง้าเปราะหอม	85	85	85	Active ingredient
1% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
1.5% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
2% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
3% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
4% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
5% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
1% w/w Propolymer	14	-	-	Thickening agent
2% w/w Propolymer	-	14	-	Thickening agent
1% w/w Hyaluronic acid	-	-	14	Thickening agent
Phenoxyethanol	0.5	0.5	0.5	Preservative
Tocopherol acetate	0.5	0.5	0.5	Antioxidant
รวม	100.0	100.0	100.0	

ตาราง 8 สูตรตำรับผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม (สูตร 10-12)

ส่วนประกอบ	สูตร 10 (%)	สูตร 11 (%)	สูตร 12 (%)	หน้าที่ในตำรับ
ไมโครอิมัลชันจากเหง้าเปราะหอม	85	85	85	Active ingredient
1% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
1.5% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
2% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
3% w/w SMC	10	-	-	Thickening agent
4% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
5% w/w SMC	-	-	-	Thickening agent
1% w/w Propolymer	-	-	-	Thickening agent
2% w/w Propolymer	-	13	9	Thickening agent
1% w/w Hyaluronic acid	4	1	5	Thickening agent
Phenoxyethanol	0.5	0.5	0.5	Preservative
Tocopherol acetate	0.5	0.5	0.5	Antioxidant
รวม	100.0	100.0	100.0	

การศึกษาความคงสภาพทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์เอสเซนส์

ในการศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ 2 ชนิด คือ เอสเซนส์ที่ไม่ได้ผสมสารสำคัญและเอสเซนส์ที่ผสมไมโครอิมัลชัน การทดสอบความคงสภาพจะศึกษาความคงสภาพ 2 ด้าน ดังนี้

1. ความคงสภาพทางด้านกายภาพโดยสังเกตด้วยตาเปล่าโดยดูลักษณะภายนอก สี การแยกชั้นของเอสเซนส์ การวัดความหนืด การวัดพฤติกรรมการไหลของเอสเซนส์ ซึ่งวัดด้วยเครื่อง Rheometer บริษัท Thermo Fisher Scientific รุ่น HAAKE RheoStress 1
2. ความคงสภาพทดสอบความคงสภาพทางเคมีโดยวัดค่า pH โดยใช้เครื่องวัด pH (pH meter) รุ่น Thermo Fisher Scientific รุ่น orion model 320 ประเทศสหรัฐอเมริกา

โดยในการศึกษานี้จะใช้วิธีทดสอบความคงสภาพระยะยาว (Long term stability) ซึ่งจะนำผลิตภัณฑ์ใส่ไว้ในตู้แช่ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0, 30, 60 และ 90 วัน ประเมินความใสความขุ่นและการตกตะกอนด้วยตาเปล่า สี การแยกชั้นของเอสเซนส์ การวัดความหนืด การวัดพฤติกรรมการไหลของเอสเซนส์ ทดสอบค่า pH ของเอสเซนส์ เปรียบเทียบวันที่ 0, 30, 60 และ 90 วัน บันทึกผล และทดสอบที่สภาวะเร่ง (heating-cooling cycle stability) ซึ่งจะนำผลิตภัณฑ์ใส่ไว้ในตู้แช่ที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วสลับไปไว้ในตู้อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สลับกันจำนวน 6 รอบ ประเมินความใสความขุ่น และการตกตะกอนด้วยตาเปล่า สี การแยกชั้นของเอสเซนส์ การวัดความหนืด การวัดพฤติกรรมการไหลของเอสเซนส์ ทดสอบค่า pH ของเอสเซนส์ เปรียบเทียบวันที่ 0 และครบในรอบที่ 6 บันทึกผล

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ในการทำวิจัยครั้งนี้ประกอบด้วยสถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้สถิติ T-test และ Two way ANOVA ด้วยโปรแกรม Graphpad Prism v.7.0 โดยให้ค่า $p < 0.05$ ซึ่งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จังหวัดนครนายก

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย

บทที่ 4

ผลการดำเนินงานวิจัย

ผลการเตรียมสารสกัดน้ำมันเหง้าเปราะหอม

จากการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าเปราะหอมแห้งด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าได้ร้อยละของสารสกัดน้ำมันเปราะหอม (%yield) เท่ากับ 0.99 ± 0.09 %w/w จากรายงานวิจัยของ Suprava Sahoo และคณะได้ผลการสกัดน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่สกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ เป็นร้อยละของสารสกัดน้ำมันเปราะหอมเท่ากับ 0.9 % v/w (Sahoo, Parida, Singh, Padhy, & Nayak, 2014) ซึ่งใกล้เคียงกับการสกัดน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่สกัดได้ในงานวิจัยนี้ซึ่งแสดงถึงประสิทธิภาพในการสกัดของน้ำมันเหง้าเปราะหอม การสกัดน้ำมันเหง้าเปราะหอมด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำเป็นวิธีที่สามารถทำได้ง่าย ไม่ซับซ้อนและได้น้ำมันเหง้าเปราะหอมที่มีปริมาณค่อนข้างมากและมีคุณภาพดี

ผลการวิเคราะห์สารสำคัญในน้ำมันเหง้าเปราะหอมด้วยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

จากผลวิเคราะห์น้ำมันเหง้าเปราะหอมด้วยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) ซึ่งพบว่าน้ำมันเหง้าเปราะหอมมีองค์ประกอบของสารสำคัญ 35 ชนิด เช่น Ethyl cinnamate , (E)-Ethyl-*p*-methoxycinnamate, Pentadecane และสารสำคัญอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 9 โดยจะพบสาร Ethyl cinnamate ในปริมาณสูงที่สุดที่ร้อยละ 36.33 รองลงมาคือ Ethyl-*p*-methoxycinnamate ที่ร้อยละ 23.77 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sirivan และคณะในปี 2007 ซึ่งได้ศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันเหง้าเปราะหอมซึ่งใช้วิธีการกลั่นด้วยน้ำ โดยพบว่าในน้ำมันเหง้าเปราะหอมมีสาร Ethyl-*p*-methoxycinnamate ร้อยละ 42.41 และ Ethyl cinnamate ร้อยละ 29.56 ผลที่ได้แสดงค่าเป็นโครมาโตแกรมดังแสดงในภาพประกอบที่ 5 จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าสารกลุ่ม Ethyl cinnamate มีคุณสมบัติทางเคมีในการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้

ตาราง 9 ข้อมูลทางเคมีของสารประกอบที่พบในน้ำมันเหง้าเปราะหอมจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี
Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

Retention time (min)	% Area	Chemical name	CAS NO.
4.354	0.11	α -Tricyclene	508-32-7
4.507	0.53	L- α -Pinene	7785-26-4
4.728	1.45	Camphene	79-92-5
5.024	0.25	3,7,7-Trimethyl-1,3,5-cycloheptatriene	3479-89-8
5.126	0.25	2(10)-Pinene	123-91-3
5.256	0.14	β -Myrcene	123-35-3
5.426	0.10	Octanal	124-13-0
5.589	3.79	3-Carene	13466-78-9
5.790	0.81	o-Cymene	527-84-4
5.854	0.50	D-Limonene	5989-27-5
5.910	6.19	Eucaliptol	470-82-6
7.637	0.09	Camphor	76-22-2
7.810	0.75	p-Mentha-1,5-dien-8-ol	1686-20-0
7.926	4.32	endo-Borneol	507-700-0
8.054	0.20	2-Caren-4-ol	6617-35-2
8.103	0.40	m-Cymen-8-ol	5208-37-7
8.165	0.24	p-Cymen-8-ol	1197-01-9
8.262	0.20	L- α -Terpineol	10482-56-1
8.739	0.15	Eucarvone	503-93-5
10.010	0.16	4,7,7-Trimethylbicyclo[4.1.0] hept-3-en-2-one	81800-50-2
11.035	0.19	Tetradecane	629-59-4
11.248	0.71	Cyperene	2387-78-2

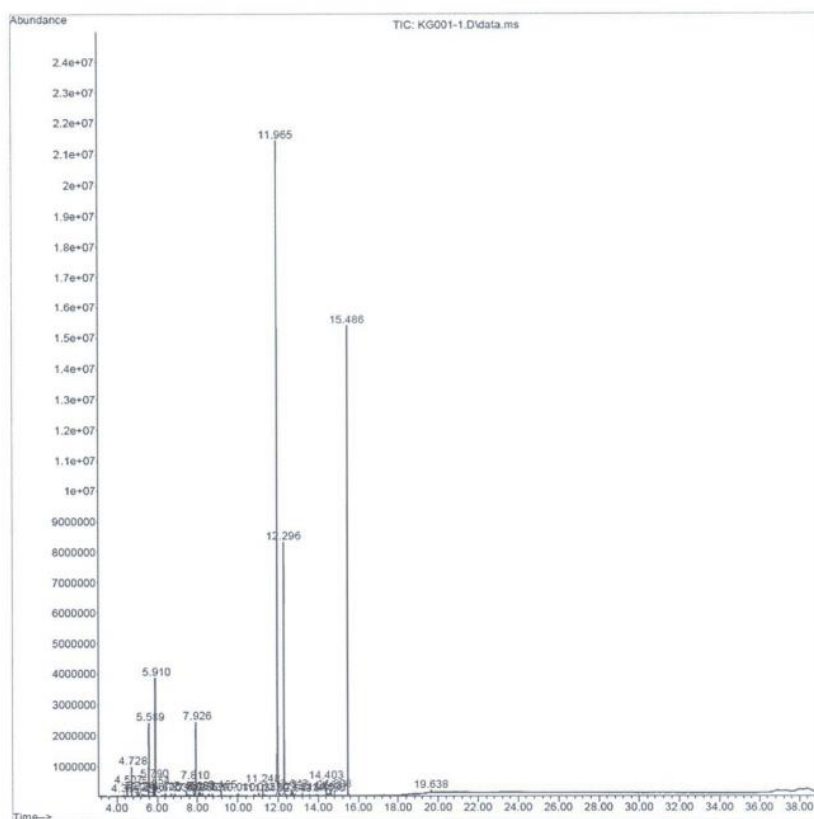
ตาราง 9 (ต่อ)

Retention time (min)	% Area	Chemical name	CAS NO.
11.348	0.12	α -Gurjunene	489-40-7
11.965	36.33	Ethyl cinnamate	103-36-6
12.079	0.22	1-Ethyl-2-methyl cyclododecane	22681-52-3
12.296	13.12	Pentadecane	629-62-9
12.643	0.40	γ -Cadinene	39029-41-9
12.728	0.36	δ -Cadinene	483-76-1
12.844	0.16	Cubebol	23445-02-5
13.213	0.27	Germacrene B	15423-57-1
14.403	0.89	Ethyl p-methoxycinnamate	1929-30-2
14.490	0.22	6(E),8(E)-Heptadecadiene	2000321-41-2
14.568	0.30	(Z)-3-Heptadecene	2000328-51-7
14.808	0.31	Heptadecane	629-78-7
15.486	23.77	(E)-Ethyl-p-methoxycinnamate	24393-56-4

* Chemical name จากการเปรียบเทียบเชิงคุณภาพของพีคกับฐานข้อมูล W10N14.L

**รายงานผลเฉพาะพีคที่มี %quality ตั้งแต่ 75 ขึ้นไป

Total Ion Chromatogram สาร KG 001, Data file KG001-1.D



ภาพประกอบ 5 โครมาโตแกรมของน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่วิเคราะห์ด้วยวิธี
Gas chromatography-mass spectrometry

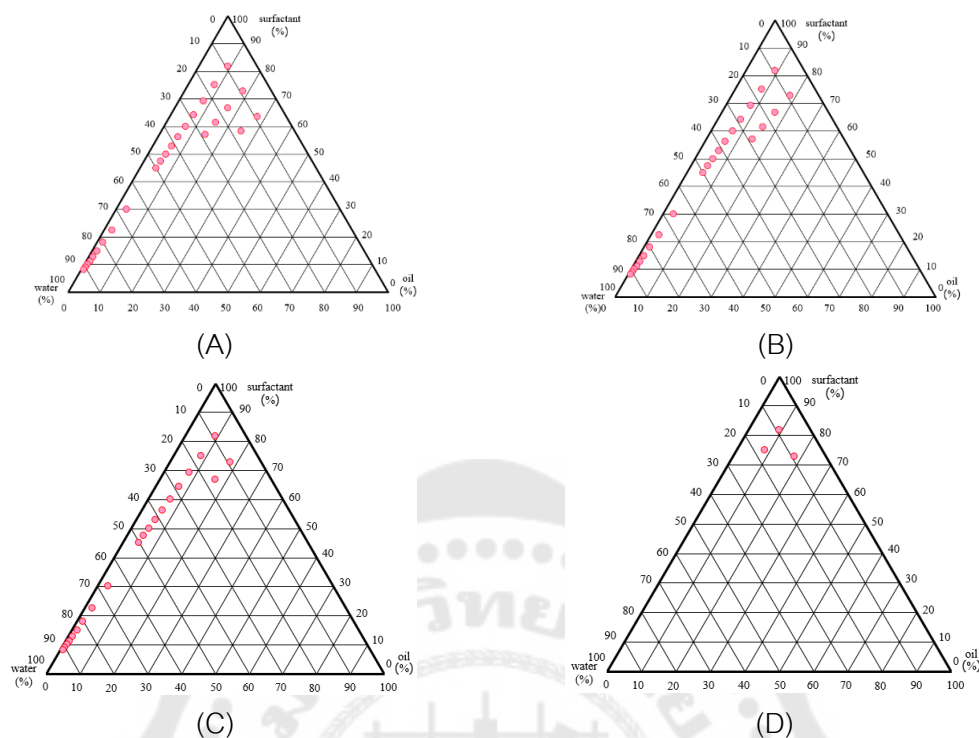
ผลการทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของน้ำมันเหง้าเปราะหอม

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ต พบว่าได้ค่าการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตบี (sun protection factor (SPF)) ของน้ำมันเหง้าเปราะหอมเท่ากับ 33.34 ± 1.18 ซึ่งได้ระดับการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตบีในระดับสูง ซึ่งมีค่า SPF ระหว่าง 30 – 50 ทำให้สารสกัดน้ำมันเหง้าเปราะหอมมีประสิทธิภาพในการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตบีได้ร้อยละ 96-97 (Latha et al., 2013) จากผลที่ได้แสดงถึงประสิทธิภาพในการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตบีของน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่ดีมาก ในส่วนค่า Critical wavelength ที่บ่งบอกถึงความสามารถในการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตเอของน้ำมันเหง้าเปราะหอมเท่ากับ 337.78 ± 0.67 ซึ่งแสดงถึง

ความสามารถในการป้องกันรังสีรังสีอัลตราไวโอเล็ตของน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่ต่ำเนื่องจากค่า Critical wavelength ที่ได้มีค่าที่น้อยกว่า 370 (Lionetti & Rigano, 2017) ผู้วิจัยจึงนำน้ำมันเหง้าเปราะมาพัฒนาต่อเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตเป็นหลักต่อไป

ผลการเตรียมไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอม

จากการเตรียมตำรับไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอมด้วยวิธี titration method เพื่อหาอัตราส่วนของน้ำมันเหง้าเปราะหอม น้ำ และสารลดแรงตึงผิว แล้วนำมาสร้างแผนภาพไตรวัฏภาคเทียม (pseudo-ternary phase diagram) ซึ่งใช้สารลดแรงตึงผิวคือ Tween 80[®] และใช้สารลดแรงตึงผิวร่วมคือ propylene glycol โดยมีสัดส่วนระหว่างน้ำมันเหง้าเปราะหอมและสารลดแรงตึงผิวได้แก่ 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 และ 9:1 และสำหรับสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมที่ใช้กำหนดให้เป็น Tween 80[®] อย่างเดียว Tween 80[®] : propylene glycol ในอัตราส่วน 1:1 Tween 80[®] : propylene glycol ในอัตราส่วน 1:2 และ Tween 80[®] : propylene glycol ในอัตราส่วน 1:3 ดังแสดงในภาพประกอบที่ 6 พบว่าตำรับไมโครอิมัลชันที่มี Tween 80[®] เป็นสารลดแรงตึงผิวเพียงชนิดเดียวให้พื้นที่สัดส่วนที่เกิดไมโครอิมัลชันของตำรับเป็นบริเวณกว้างมากกว่าในตำรับไมโครอิมัลชันที่มีสัดส่วน Tween 80[®] : propylene glycol อัตราส่วน 1:1, 1:2 และ 1:3 ผู้วิจัยจึงได้เลือกตำรับไมโครอิมัลชันที่มีสัดส่วน Tween 80[®] เป็นสารลดแรงตึงผิวเพียงชนิดเดียวในสัดส่วนที่มีปริมาณของน้ำมันเหง้าเปราะหอมมากที่สุดคือร้อยละ 27.27 ซึ่งได้จากน้ำมันเหง้าเปราะหอม 300 ไมโครลิตร สารลดแรงตึงผิว 700 ไมโครลิตร และน้ำ 100 ไมโครลิตร มาใช้ในการตั้งตำรับต่อไป

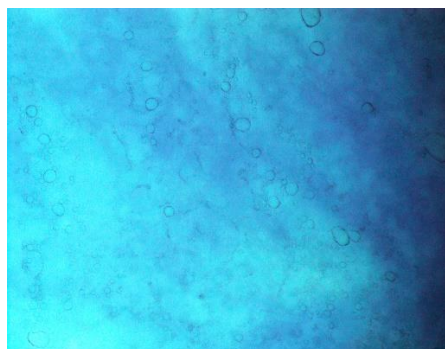


ภาพประกอบ 6 ผลของสารลดแรงตึงผิวที่แตกต่างกันในการเกิดไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอมบนแผนภาพไตรวัฏภาคเทียมในอัตราส่วนของ Tween 80[®] เป็นสารลดแรงตึงผิวอย่างเดียว (A), Tween 80[®] : propylene glycol ในอัตราส่วน 1:1 (B) Tween 80[®] : propylene glycol ในอัตราส่วน 1:2 (C) และ Tween 80[®] : propylene glycol ในอัตราส่วน 1:3 (D)

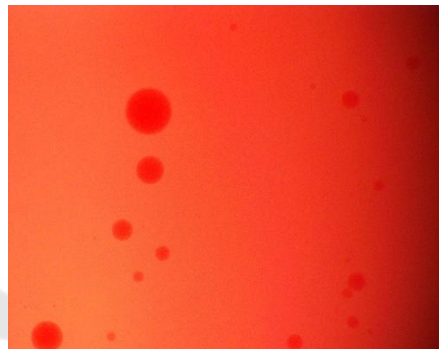
ผลการศึกษาชนิดของไมโครอิมัลชัน

ในการศึกษาชนิดของไมโครอิมัลชันว่าเป็นชนิดน้ำในน้ำมัน (w/o microemulsion) หรือชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w microemulsion) สามารถทดสอบได้ด้วยวิธี dye solubility test โดยการย้อมสีไมโครอิมัลชันด้วยสีที่ละลายในน้ำ (water-soluble dye) คือ brilliant blue และสีที่ละลายในน้ำมัน (oil-soluble dye) คือ Sudan IV หลังจากส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์พบว่าตำรับไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอมเป็นชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w) ซึ่งจากภาพจะพบว่าไมโครอิมัลชัน ติดสี Sudan IV แสดงว่าไมโครอิมัลชันเป็นน้ำมันและภายนอกไมโครอิมัลชันเป็นน้ำ ดังแสดงในภาพประกอบที่ 7 และภาพประกอบที่ 8 แสดงถึงการแพร่กระจายของสารย้อมสี brilliant

blue ซึ่งกระจายออกเป็นวงกว้างแสดงถึงอนุภาคภายนอกของตำรับไมโครอิมัลชันเป็นสารที่ละลายด้วยน้ำซึ่งสอดคล้องกับภาพประกอบที่ 7

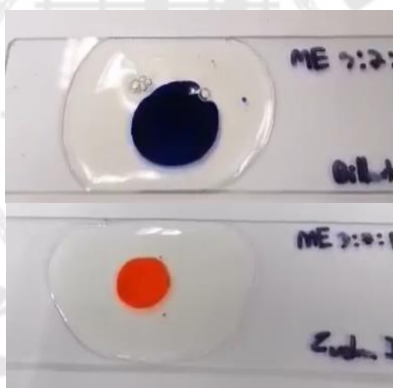


(A)

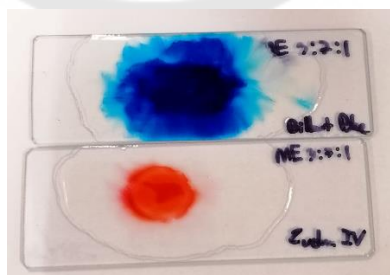


(B)

ภาพประกอบ 7 อนุภาคของไมโครอิมัลชันที่ย้อมสีด้วย (A) brilliant blue และ (B) Sudan IV



A



B

ภาพประกอบ 8 การแพร่กระจายของ brilliant blue (น้ำเงิน) และ Sudan IV (แดง) ในตำรับไมโครอิมัลชันเปรียบเทียบกับ (A) เริ่มต้นหยดสารและ (B) หลังจากปล่อยให้ทิ้งไว้

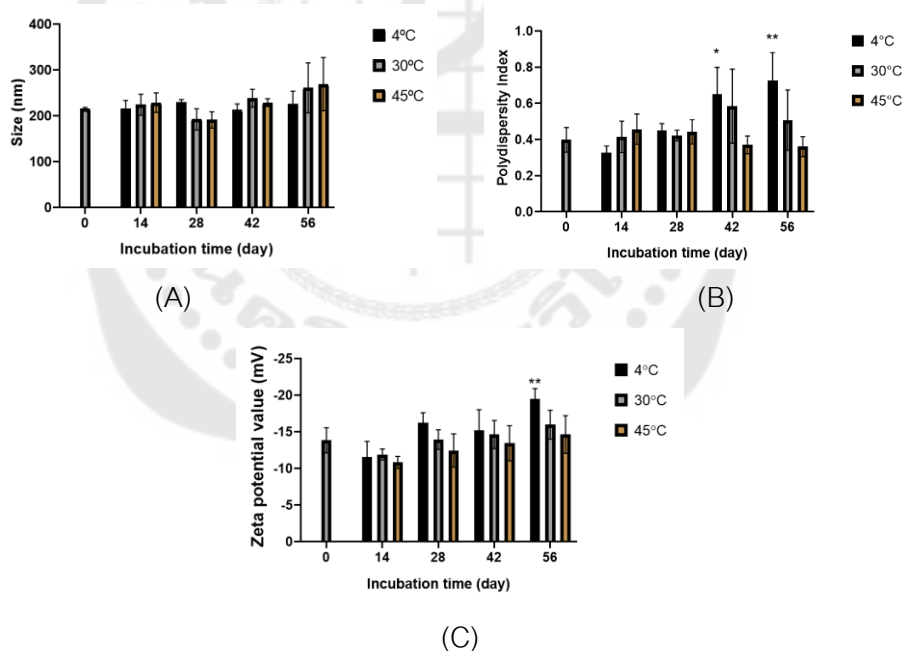
ผลการศึกษาความคงสภาพทางกายภาพของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม

จากการศึกษาความคงสภาพทางกายภาพของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม โดยการเก็บไมโครอิมัลชันไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 56 วัน ซึ่งจะวัดขนาดอนุภาค (size) การกระจายของขนาดอนุภาค (polydispersity index; Pdl) และค่าศักย์ซีต้า (zeta potential) ด้วยเครื่อง zetasizer ที่เวลา 0, 14, 28, 42 และ 56 วัน ดังแสดงในตารางที่ 10

ตาราง 10 แสดงค่าขนาดอนุภาค (size) การกระจายของขนาดอนุภาค (polydispersity index; Pdl) และค่าศักย์ซีต้า (zeta potential) ของไมโครอิมัลชันของน้ำมันเหง้าเปราะหอมหลังการทดสอบความคงสภาพที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 56 วัน

ระยะเวลาในการศึกษาความคงสภาพ	อุณหภูมิ	Size (nm)	Pdl	Zeta potential (mV)
0 วัน	30 °C	215.9 ± 2.5	0.397 ± 0.068	-13.7 ± 1.7
	4 °C	215.0 ± 18.4	0.326 ± 0.038	-11.6 ± 2.1
14 วัน	30 °C	224.3 ± 23.0	0.414 ± 0.087	-11.9 ± 0.8
	45 °C	228.8 ± 21.2	0.456 ± 0.083	-10.8 ± 0.8
28 วัน	4 °C	229.0 ± 6.5	0.450 ± 0.037	-16.2 ± 1.4
	30 °C	192.3 ± 23.3	0.421 ± 0.029	-13.9 ± 1.3
	45 °C	191.0 ± 17.8	0.442 ± 0.067	-12.5 ± 2.3
42 วัน	4 °C	212.5 ± 13.6	0.648 ± 0.150	-15.2 ± 2.8
	30 °C	238.5 ± 19.5	0.584 ± 0.204	-14.6 ± 1.9
	45 °C	228.8 ± 8.5	0.370 ± 0.049	-13.4 ± 2.4
56 วัน	4 °C	225.4 ± 28.6	0.726 ± 0.154	-19.5 ± 1.4
	30 °C	261.0 ± 54.5	0.506 ± 0.167	-16.0 ± 2.0
	45 °C	269.2 ± 58.1	0.360 ± 0.055	-14.6 ± 2.6

จากผลการศึกษาคงสภาพทางกายภาพซึ่งวัดขนาดอนุภาค (size) การกระจายของขนาดอนุภาค (polydispersity index; Pdi) และค่าศักย์ไฟฟ้า (zeta potential) ด้วยเครื่อง zetasizer ที่เวลา 0, 14, 28, 42 และ 56 วัน พบว่าขนาดอนุภาค (size) ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ส่วนการกระจายของขนาดอนุภาค (polydispersity index; Pdi) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญที่ 42 วัน ($p = 0.04$) และ 56 วัน ($p = 0.004$) อาจเป็นผลมาจากสารลดแรงตึงผิวในตำรับที่มีการกระจายตัวของขนาดอนุภาคเมื่อเกิดการปรับลดลงของอุณหภูมิ (Su et al., 2017) และค่าศักย์ไฟฟ้า (zeta potential) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.007$) ในวันที่ 56 ซึ่งแสดงถึงความคงสภาพของตำรับไมโครอิมัลชัน ดังภาพประกอบที่ 9 ซึ่งค่าศักย์ไฟฟ้ามีผิวประจุเป็นลบซึ่งอาจเกิดจากการดูดซับไฮดรอกไซด์ไอออน (OH^-) จากน้ำมันเหง้าเปราะหอม (Ariviani, Anggrahini, Naruki, & Raharjo, 2015) ซึ่งผู้วิจัยได้ผลวิเคราะห์ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ $-10.5 \pm 0.5 \text{ mV}$

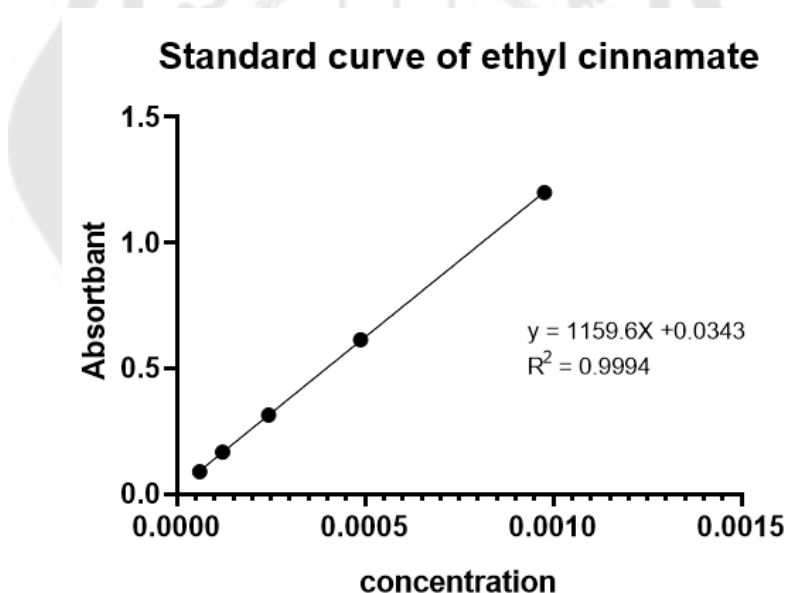


ภาพประกอบ 9 (A) ค่าขนาดอนุภาค (size), (B) ค่าการกระจายตัวของอนุภาค (Pdi) และ (C) ค่าศักย์ไฟฟ้า (zeta potential value) ของตำรับไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอมหลังเตรียมเสร็จทันทีและหลังเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0, 14, 28, 42, 56 วัน

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ เมื่อเปรียบเทียบกับหลังเตรียมตำรับทันที

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารมาตรฐาน ethyl cinnamate ในน้ำมันงาเปราะหอมด้วยวิธี UV-visible spectrophotometry

ผลจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน ethyl cinnamate ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ในช่วงความยาวคลื่น 200 - 800 นาโนเมตร พบว่าความยาวคลื่นที่สารมาตรฐาน Ethyl cinnamate มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดคือ 281.0 นาโนเมตร (λ_{max}) และเมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน ethyl cinnamate ในช่วงความเข้มข้น 0.00006 – 0.002 % v/v ที่ความยาวคลื่นนี้ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟเส้นตรง พบว่าได้สมการเส้นตรงคือ $y = 1159.6x + 0.0343$ มีค่า $R^2 = 0.9994$ ซึ่งยืนยันว่ากราฟมาตรฐานมีความถูกต้องและน่าเชื่อถือ โดย ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; R Square (R^2) ซึ่งเป็นค่าที่ใช้บ่งบอกความสัมพันธ์ของตัวแปรซึ่งค่าที่ได้ต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 0.999 ดังแสดงในภาพประกอบที่ 10



ภาพประกอบ 10 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน ethyl cinnamate ในตัวทำละลาย DMSO กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 281.0 nm

ผลการศึกษาความคงสภาพทางเคมีของไมโครอิมัลชันน้ำมันจากเหง้าเปราะหอม

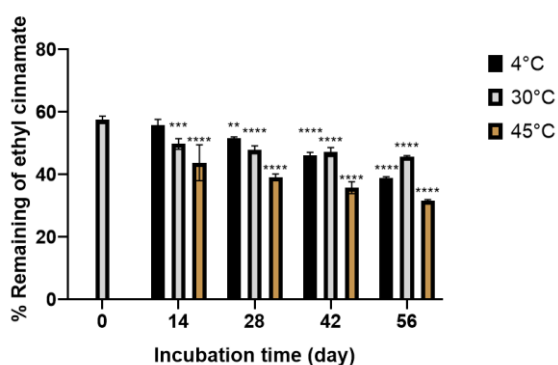
ผลการศึกษาไมโครอิมัลชันน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่ความเข้มข้น 0.001 % v/v เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 14, 28, 42 และ 56 วัน ด้วยเทคนิค UV-visible spectrophotometer เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสาร ethyl cinnamate ที่เหลืออยู่ในตำรับไมโครอิมัลชันในระยะเวลาและอุณหภูมิที่ต่างกันดังแสดงในตารางที่ 11

ตาราง 11 แสดงค่าความยาวคลื่น (λ max) ของสาร ethyl cinnamate ในตำรับไมโครอิมัลชันของน้ำมันจากเหง้าเปราะหอมหลังการทดสอบความคงสภาพที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 56 วัน

ไมโครอิมัลชัน	อุณหภูมิ	ค่าความยาวคลื่น (λ max) (281 nm)	ความเข้มข้นของ Ethyl cinnamate ในตำรับ (%v/v)	คิดเป็นร้อยละ
0 วัน	30 °C	0.7011 ± 0.0137	0.000575 ± 0.0000118	57.50 ± 1.18%
	4 °C	0.6826 ± 0.0201	0.0005591 ± 0.0000173	55.91 ± 1.73%
14 วัน	30 °C	0.6117 ± 0.0201	0.0004979 ± 0.0000173	49.79 ± 1.73%
	45 °C	0.5422 ± 0.0667	0.000438 ± 0.0000575	43.80 ± 5.75%
28 วัน	4 °C	0.6332 ± 0.0045	0.0005165 ± 0.0000039	51.65 ± 0.39%
	30 °C	0.5902 ± 0.0145	0.0004794 ± 0.0000125	47.94 ± 1.25%
42 วัน	45 °C	0.4878 ± 0.0125	0.0003911 ± 0.0000108	39.11 ± 1.08%
	4 °C	0.5705 ± 0.0101	0.0004624 ± 0.0000087	46.24 ± 0.87%
56 วัน	30 °C	0.5817 ± 0.0165	0.000472 ± 0.0000143	47.20 ± 1.43%
	45 °C	0.4494 ± 0.0221	0.000358 ± 0.0000191	35.80 ± 1.91%
	4 °C	0.4851 ± 0.0050	0.0003888 ± 0.0000043	38.88 ± 0.43%
	30 °C	0.5649 ± 0.0034	0.0004576 ± 0.000003	45.76 ± 0.30%
	45 °C	0.4000 ± 0.0051	0.0003154 ± 0.0000044	31.54 ± 0.44%

จากการศึกษาความคงสภาพทางเคมีของตำรับไมโครอิมัลชันพบว่าปริมาณคงเหลือของสาร ethyl cinnamate ในตำรับไมโครอิมัลชันที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส เมื่อเก็บไว้

เป็นเวลา 0, 14, 28, 42 และ 56 วัน แสดงในภาพประกอบที่ 11 ซึ่งหลังจากเตรียมเสร็จพบว่า ethyl cinnamate ที่ $57.50 \pm 1.18\%$ คิดเป็นร้อยละ 100 เมื่อเก็บตัวอย่างครบถ้วนตามกำหนดระยะเวลาพบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีปริมาณสาร ethyl cinnamate ที่ร้อยละ 55.91 ± 1.73 , 51.65 ± 0.39 , 46.24 ± 0.87 และ $38.88 \pm 0.43\%$ คิดเป็นร้อยละ 97.23, 89.83, 80.42 และ 67.61 ตามลำดับวันที่ 14, 28, 42 และ 56 พบว่าร้อยละของสาร ethyl cinnamate ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.005$) ในวันที่ 28 และลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ในวันที่ 42 และ 56 เมื่อเทียบกับหลังเตรียมเสร็จ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีปริมาณสาร ethyl cinnamate ที่ร้อยละ 49.79 ± 1.73 , 47.94 ± 1.25 , 47.20 ± 1.43 และ 45.76 ± 0.30 คิดเป็นร้อยละ 86.59, 83.38, 82.09 และ 79.58 ตามลำดับวันที่ 14, 28, 42 และ 56 พบว่าร้อยละของสาร ethyl cinnamate ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.0002$) ในวันที่ 14 และลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ในวันที่ 28, 42 และ 56 เมื่อเทียบกับหลังเตรียมเสร็จ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสมีปริมาณคงเหลือของสาร ethyl cinnamate ที่ร้อยละ 43.80 ± 5.75 , 39.11 ± 1.08 , 35.80 ± 1.91 และ 31.54 ± 0.44 คิดเป็นร้อยละ 76.18, 68.02, 62.26 และ 54.85 ตามลำดับวันที่ 14, 28, 42 และ 56 พบว่าร้อยละของสาร ethyl cinnamate ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ในวันที่ 14, 28, 42 และ 56 เมื่อเทียบกับหลังเตรียมเสร็จ



ภาพประกอบ 11 ค่าปริมาณคงเหลือของสาร ethyl cinnamate ในตำรับไมโครอิมัลชันจากน้ำมัน
เหง้าเปราะหอม

** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ และ **** $p < 0.0001$ เมื่อเปรียบเทียบกับหลังเตรียมตำรับทันที

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของไมโครอิมัลชันจากน้ำมัน เหง้าเปราะหอม

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของไมโครอิมัลชันจากน้ำมัน
เหง้าเปราะหอมที่มีน้ำมันเหง้าเปราะหอมร้อยละ 27.27 พบว่าได้ค่าการป้องกันรังสี
อัลตราไวโอเล็ต (sun protection factor (SPF)) ของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่
นำมาวิเคราะห์เท่ากับ 18.60 ± 2.71 ซึ่งได้ระดับการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตในระดับปาน
กลาง (ค่า SPF ระหว่าง 15 – 30) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดน้ำมันเหง้าเปราะหอมมีประสิทธิภาพใน
การป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้ร้อยละ 93-95 จากการศึกษาค้นพบว่าไมโครอิมัลชันมีค่าการ
ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตน้อยกว่าน้ำมันเหง้าเปราะหอมบริสุทธิ์ (SPF เท่ากับ 33.34 ± 1.18)
ปริมาณน้ำมันเหง้าเปราะหอมในตำรับที่ร้อยละ 27.27 มีค่า SPF ที่ 18.60 ± 2.71 ซึ่งแสดงค่าการ
ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตที่ร้อยละ 55.78 เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันบริสุทธิ์ สำหรับค่าการ
ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ต (sun protection factor (SPF)) ของตำรับไมโครอิมัลชันเปล่าที่ไม่มี
น้ำมันเหง้าเปราะหอม (blank) พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.92 ± 0.00 ซึ่งแสดงว่าตำรับไมโครอิมัลชัน
เปล่าไม่มีฤทธิ์ในการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตในตำรับและประสิทธิภาพในการป้องกันรังสี
อัลตราไวโอเล็ตมาจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม ส่วนค่า critical wavelength ของน้ำมันเหง้า
เปราะหอมมีค่าเท่ากับ 337.78 ± 0.67 นาโนเมตรและในไมโครอิมัลชันมีค่าเท่ากับ 337.00 ± 0.00
นาโนเมตร ซึ่งแสดงถึงประสิทธิภาพน้ำมันเหง้าเปราะหอมและไมโครอิมัลชันไม่มีคุณสมบัติเป็น
สารกันแดดแบบ broad spectrum ที่สามารถป้องกันได้ทั้งรังสีอัลตราไวโอเล็ตเอและบีโดยแสดง
จากค่า critical wavelength ที่ต่ำกว่า 370 นาโนเมตร จากผลที่ได้จึงพบว่าทั้งน้ำมันเหง้า
เปราะหอมและไมโครอิมัลชันมีคุณสมบัติเป็นสารกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตเพียงอย่างเดียว

ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์เอสเซนส์จากไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม

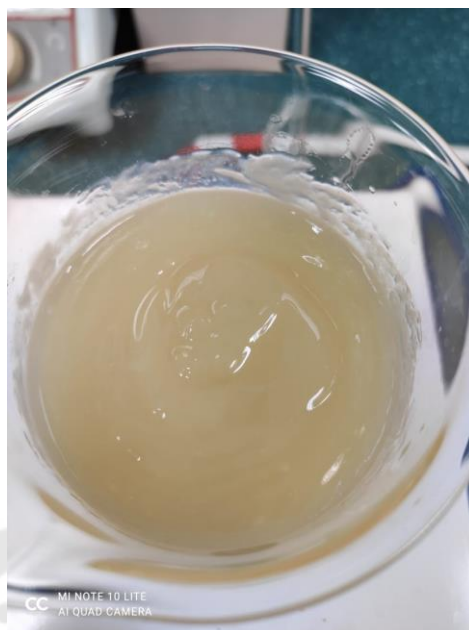
จากประสิทธิภาพการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้า
เปราะหอมที่วิเคราะห์ได้ให้ค่า SPF เท่ากับ 18.60 ± 2.71 ผู้วิจัยต้องการนำมาพัฒนาทำเป็น
ผลิตภัณฑ์ที่มีค่าการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตในระดับปานกลาง (SPF ไม่ต่ำกว่า 15) ซึ่ง
คำนวณปริมาณน้ำมันในตำรับไม่ควรน้อยกว่าร้อยละ 80.65 v/v ผู้วิจัยจึงเลือกตั้งตำรับผลิตภัณฑ์
เอสเซนส์ให้มีปริมาณไมโครอิมัลชันไม่ต่ำกว่าร้อยละ 85 ในตำรับเพื่อคาดหวังให้ประสิทธิภาพการ
ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตอยู่ในเกณฑ์ปานกลาง ผลจากการพัฒนาผลิตภัณฑ์เอสเซนส์จากไม
โครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอมซึ่งวัดผลจากการสังเกตความใสความขุ่นและการตกตะกอน
ด้วยตาเปล่า วัดค่าความหนืด ค่า pH ของตำรับในตำรับทั้ง 12 ตำรับพบว่าตำรับที่มีความ

เหมาะสมนำมาศึกษาต่อคือตำรับที่ 1 ดังแสดงในภาพประกอบที่ 12 เพราะมีความใสมากที่สุด ไม่พบการแยกชั้นหลังจากเตรียมเสร็จและหลังจากตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง ในส่วนของตำรับ 2-6 ซึ่งมีการเพิ่มความเข้มข้นของ SCMC มากขึ้นถึงร้อยละ 5 จะทำให้ตำรับเกิดความขุ่นมากขึ้นและเกิดความเหนียวข้นมากทำให้เวลาใช้แล้วมีความรู้สึกเหนอะหนะผิวมากเกินไปในตำรับที่ 4-6 ในส่วนของตำรับที่ 7 ที่มีความใสใกล้เคียงกันนั้นไม่ได้ถูกคัดเลือกมาศึกษาเนื่องจากผู้วิจัยได้ทดลองหาที่บริเวณผิวหนังแล้วพบว่าซึมเข้าผิวหนังได้น้อย มีลักษณะมันเงามากกว่าตำรับ 1 ตำรับที่ 8 ที่เพิ่มความเข้มข้นของ Propolymer ทำให้มีความขุ่นมากขึ้นเล็กน้อย เวลาทาผิวรู้สึกซึมสู่ผิวได้น้อย ผิวเป็นมันเงา ในตำรับที่ 9 และ 10 ที่ใช้ 1% w/w Hyaluronic acid เป็นสัดส่วนมากที่สุดมีความขุ่นมากที่สุดและตำรับที่ 9 มีการแยกชั้นหลังจากผสมไว้ ตำรับ 11-12 ค่อนข้างมีความขุ่นเนื่องจากในตำรับมี Propolymer และ Hyaluronic acid ทำให้ผู้วิจัยเลือกใช้ตำรับที่ 1 มาศึกษาความคงสภาพทางกายภาพต่อไป ผลดังแสดงในตารางที่ 12

ตาราง 12 ผลการทดสอบลักษณะทางกายภาพของตำรับผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ผสมไมโครอิมัลชันของเหง้าเปราะหอม

ตำรับ	สี ความชุ่ม	การแยกชั้น	ความหนืด	การซึมสู่ผิวโดยการทา
ตำรับ 1	เหลืองอ่อน	ไม่แยก	**	ซึมผ่านผิวได้ดี
ตำรับ 2	เหลืองอ่อน	ไม่แยก	**	เหนียว ซึมผ่านผิวได้ดี
ตำรับ 3	เหลืองอ่อน	ไม่แยก	***	เหนียว ซึมผ่านผิวไม่ดี
ตำรับ 4	เหลืองชุ่ม	ไม่แยก	***	เหนียว ซึมผ่านผิวไม่ดี
ตำรับ 5	เหลืองชุ่ม	ไม่แยก	****	เหนียว ซึมผ่านผิวไม่ดี
ตำรับ 6	เหลืองชุ่ม	ไม่แยก	****	เหนียว ซึมผ่านผิวไม่ดี
ตำรับ 7	เหลืองอ่อน	ไม่แยก	**	ซึมผ่านผิวไม่ดี ผิวเงา
ตำรับ 8	เหลืองชุ่ม	ไม่แยก	**	ซึมผ่านผิวไม่ดี ผิวเงา
ตำรับ 9	เหลืองชุ่มมาก	แยก	**	ซึมผ่านผิวไม่ดี
ตำรับ 10	เหลืองชุ่มมาก	ไม่แยก	***	ซึมผ่านผิวไม่ดี
ตำรับ 11	เหลืองชุ่ม	ไม่แยก	**	ซึมผ่านผิวไม่ดี ผิวเงา
ตำรับ 12	เหลืองชุ่ม	ไม่แยก	**	ซึมผ่านผิวไม่ดี

*หนืดน้อย/เหลว, **หนืดปานกลาง, ***หนืดมาก, ****หนืดมากเกินไปจนยากแก่การนำไปใช้งาน



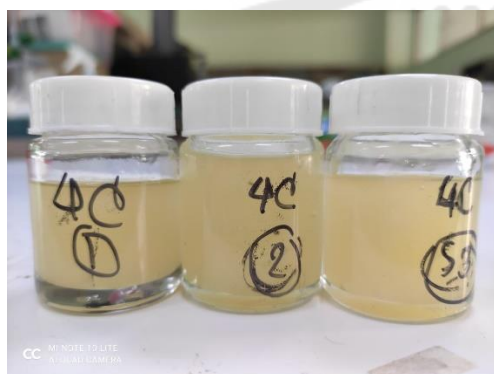
ภาพประกอบ 12 ตำรับเอสเซนส์ตำรับที่ 1 หลังเตรียมตำรับเสร็จทันที

หลังจากได้ตำรับที่เหมาะสมแล้ว ผู้วิจัยนำตำรับที่ได้มาทดสอบความคงสภาพทางกายภาพของตำรับด้วยวิธี Long term stability และทดสอบความคงสภาพทางกายภาพของตำรับด้วยวิธี heating-cooling cycle stability เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของตำรับ

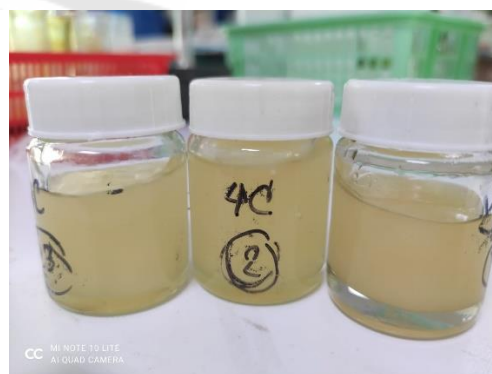
ทดสอบความคงสภาพทางกายภาพของตำรับด้วยวิธี Long term stability โดยการประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับเอสเซนส์จากไมโครอิมัลชันที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 30, 60 และ 90 วัน

หลังจากเตรียมตำรับเสร็จทันที พบว่าตำรับเอสเซนส์ผสมไมโครอิมัลชันที่ได้มีสีเหลืองเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้น ไม่พบการตกตะกอน ค่า pH คือ 6.01 ± 0.04 จากการทดสอบความคงสภาพทางกายภาพของตำรับแบบ Long term stability โดยการประเมินลักษณะทางกายภาพของตำรับเอสเซนส์จากไมโครอิมัลชันที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 30, 60 และ 90 วัน เมื่อครบเวลา 90 วัน ตำรับเอสเซนส์ ที่ 4 องศาเซลเซียส ไม่พบการแยกชั้นในตำรับ ไม่พบการตกตะกอน สีไม่เปลี่ยนแปลง ความหนืดลดลงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับหลังเตรียมเสร็จดังแสดงในภาพประกอบที่ 13 ค่า pH ลดลงเหลือประมาณ 5.80 ± 0.05 , 5.70 ± 0.07 และ 5.35 ± 0.04 ที่เวลา 30, 60 และ 90 วัน ตามลำดับ ซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) สำหรับตัวอย่างที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ไม่พบการแยกชั้นในตำรับในแต่ละช่วงเวลา

สีมีลักษณะเหลืองมากขึ้นเล็กน้อย ความหนืดลดลงมากกว่าที่ 4 องศาเซลเซียสดังแสดงในภาพประกอบที่ 14 ค่า pH ลดลงเหลือ 5.59 ± 0.02 , 5.34 ± 0.08 และ 4.81 ± 0.02 เมื่อเก็บไว้ที่เวลา 30, 60 และ 90 วัน ตามลำดับเวลาซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) สำหรับตัวอย่างที่เก็บไว้ที่ 45 องศาเซลเซียส พบการแยกชั้นในตำรับตั้งแต่ 30 วันเป็นต้นมา ตำรับมีสีเหลืองเข้มขึ้น เหลวใส ความหนืดลดลงจนเกือบจะเหลวคล้ายน้ำดังแสดงในภาพประกอบที่ 15 ค่า pH ลดลงเหลือ 5.25 ± 0.03 , 5.16 ± 0.02 และ 4.64 ± 0.05 เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 30, 60 และ 90 วัน ตามลำดับเวลา ซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ซึ่งค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงไปในช่วงเวลาต่าง ๆ จะแสดงผลในภาพประกอบที่ 16



A



B

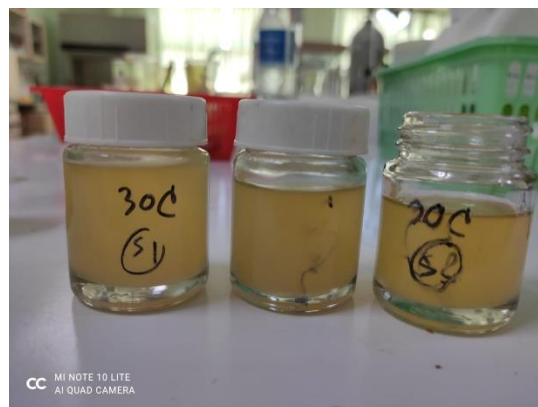


C

ภาพประกอบ 13 ตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่เวลา (A) 30 วัน, (B) 60 วัน และ (C) 90 วัน



A

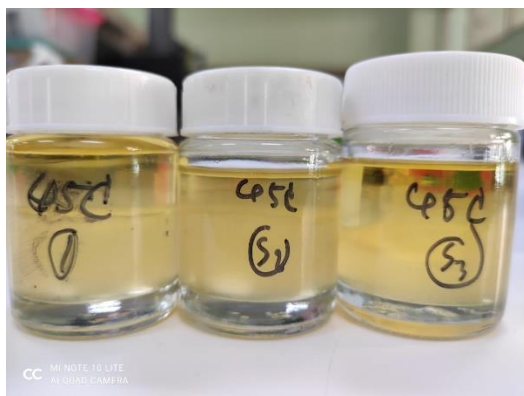


B

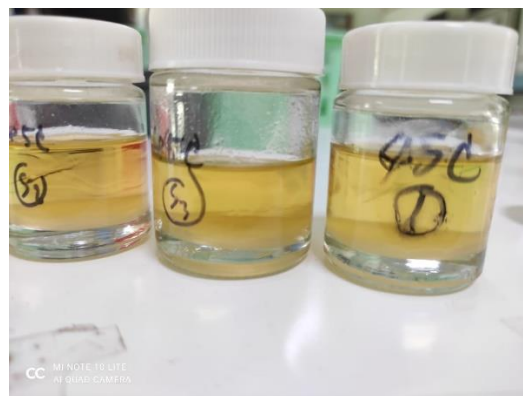


C

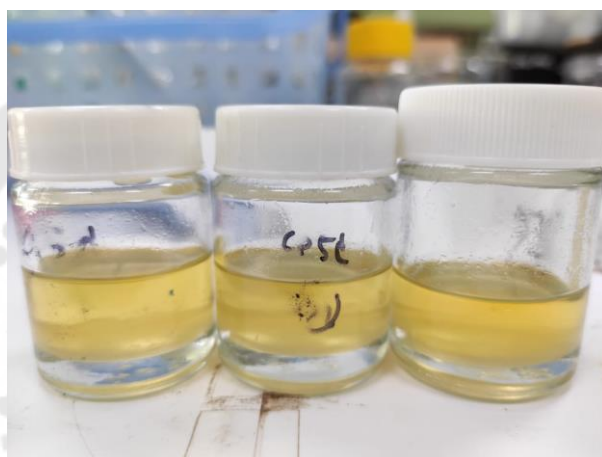
ภาพประกอบ 14 ต่ำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสที่เวลา (A) 30 วัน, (B) 60 วันและ (C) 90 วัน



A

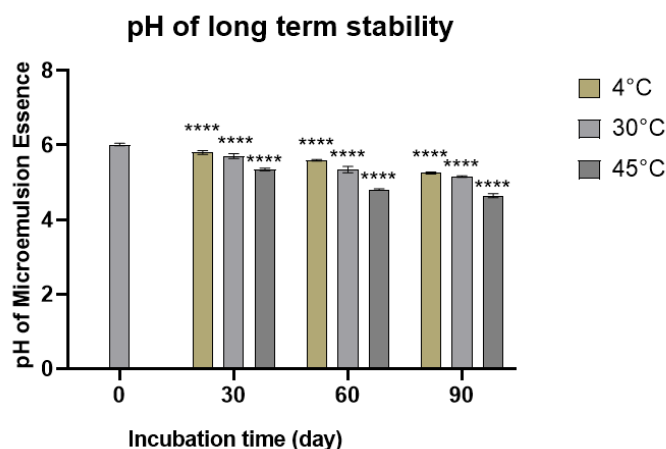


B



C

ภาพประกอบ 15 ตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา (A) 30 วัน, (B) 60 วันและ (C) 90 วัน



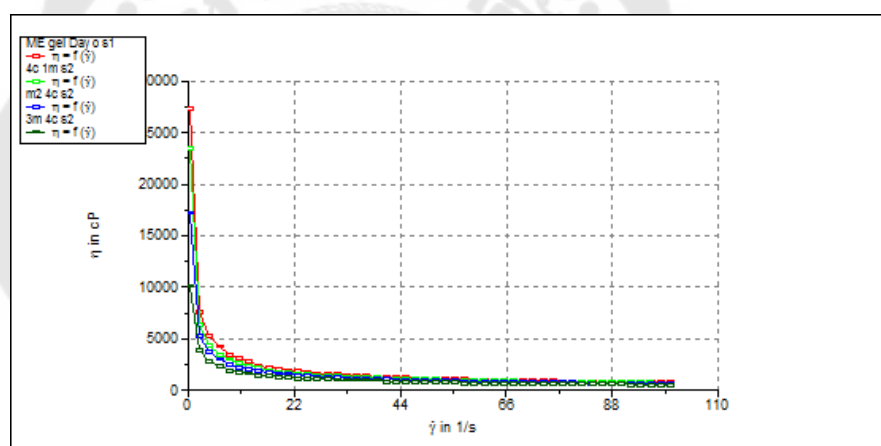
ภาพประกอบ 16 แสดงค่า pH ของตำรับเอสเซนส์ที่เวลา 30, 60 และ 90 วันเปรียบเทียบกับค่า pH ของตำรับเอสเซนส์หลังเตรียมตำรับเสร็จทันที

**** $p < 0.001$ เมื่อเปรียบเทียบกับหลังเตรียมตำรับทันที

การทดสอบความคงสภาพทางกายภาพของตำรับด้วยวิธี Long term stability ซึ่งเก็บข้อมูลที่ 0, 30, 60 และ 90 วัน โดยผู้วิจัยใช้เครื่อง Rheometer บริษัท Thermo Fisher Scientific รุ่น HAAKE RheoStress 1 ในการทดสอบหาค่าความหนืด (η) และค่าความเค้นของตำรับ (shear stress) ซึ่งตั้งค่าวัดตำรับโดยใช้อัตราเฉือน (shear rate) เท่ากับ 0.5 – 100 รอบต่อวินาที วัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าค่าความหนืดหลังเตรียมตำรับทันทีมีค่าเท่ากับ 23678.84 ± 5114.17 , 2172.03 ± 129.29 , 1358.28 ± 42.05 , 1053.95 ± 26.28 , 869.19 ± 15.28 , 750.12 ± 14.38 cP ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ตำรับที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในวันที่ 30 มีค่าความหนืดเท่ากับ 22865.17 ± 3402.97 , 1843.50 ± 47.07 , 1227.10 ± 14.37 , 978.62 ± 8.44 , 832.20 ± 8.37 , 725.56 ± 5.71 cP ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในวันที่ 60 ค่าความหนืดเท่ากับ 16357.39 ± 1338.04 , 1588.35 ± 8.14 , 1077.97 ± 10.13 , 869.71 ± 1.93 , 743.70 ± 0.30 , 658.73 ± 4.09 cP ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในวันที่ 90 ค่าความหนืดเท่ากับ 11498.91 ± 2611.01 , 1444.95 ± 152.31 , 990.65 ± 92.59 , 803.71 ± 78.15 , 692.89 ± 65.96 , 617.68 ± 55.71 cP ที่อัตราเฉือน

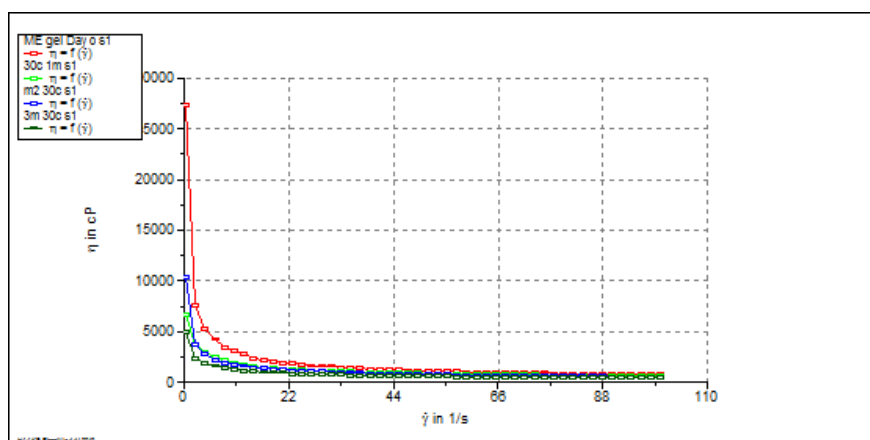
0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ดังแสดงในภาพประกอบที่ 17 พบว่าค่าความหนืดในวันที่ 60 ที่อัตราเฉือน 0.5 รอบต่อวินาที วันที่ 30 ที่อัตราเฉือน 40 รอบต่อวินาทีและวันที่ 60 ที่อัตราเฉือน 100 รอบต่อวินาทีที่มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.03, 0.03, 0.01$) ค่าความหนืดในวันที่ 30 ที่อัตราเฉือน 20 รอบต่อวินาทีและในวันที่ 60 ที่อัตราเฉือน 80 รอบต่อวินาทีที่มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.006, 0.001$) ในวันที่ 90 ที่อัตราเฉือน 0.5 รอบต่อวินาที วันที่ 60 ที่อัตราเฉือน 60 รอบต่อวินาทีและวันที่ 90 ที่อัตราเฉือน 100 รอบต่อวินาทีที่มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.0004, 0.0002, 0.0002$) ในวันที่ 60 และ 90 ที่อัตราเฉือน 20 รอบต่อวินาที วันที่ 60 และ 90 ที่อัตราเฉือน 40 รอบต่อวินาที วันที่ 90 ที่อัตราเฉือน 60 รอบต่อวินาทีและวันที่ 90 ที่อัตราเฉือน 80 รอบต่อวินาทีที่มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 20



ภาพประกอบ 17 แสดงค่าความหนืดของตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา (สีแดง) 0 วัน, (สีเขียวอ่อน) 30 วัน, (สีน้ำเงิน) 60 และ (สีเขียวยเข้ม) 90 วัน

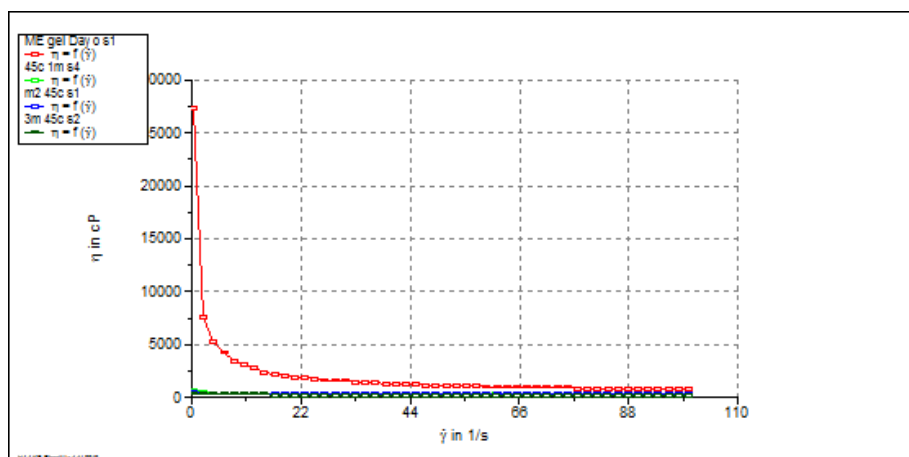
ตำรับที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสในวันที่ 30 มีค่าความหนืดเท่ากับ 9270.59 ± 2957.00 , 1359.13 ± 170.35 , 962.48 ± 103.84 , 791.18 ± 83.11 , 687.07 ± 65.42 , 612.06 ± 52.56 cP ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในวันที่ 60 ค่าความหนืดเท่ากับ 7481.28 ± 2690.62 , 1147.97 ± 162.03 , 792.68 ± 74.49 , 649.39 ± 62.52 , 566.21 ± 48.09 , 501.44 ± 46.44 cP ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในวันที่ 90 ค่าความหนืดเท่ากับ

5815.13 $\pm$ 739.51, 833.08 $\pm$ 109.50, 611.50 $\pm$ 60.92, 513.66 $\pm$ 52.01, 455.00 $\pm$ 45.13, 407.26 $\pm$ 38.12 cP ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสดังแสดงในภาพประกอบที่ 18 ซึ่งพบว่าค่าความหนืดในวันที่ 30 ที่อัตราเฉือน 100 รอบต่อวินาทีมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.0001$) ในส่วนที่เวลา 30, 60 และ 90 วัน ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80 และ 100 รอบต่อวินาทีนอกจากนั้น มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ที่ดังแสดงในภาพประกอบที่ 20

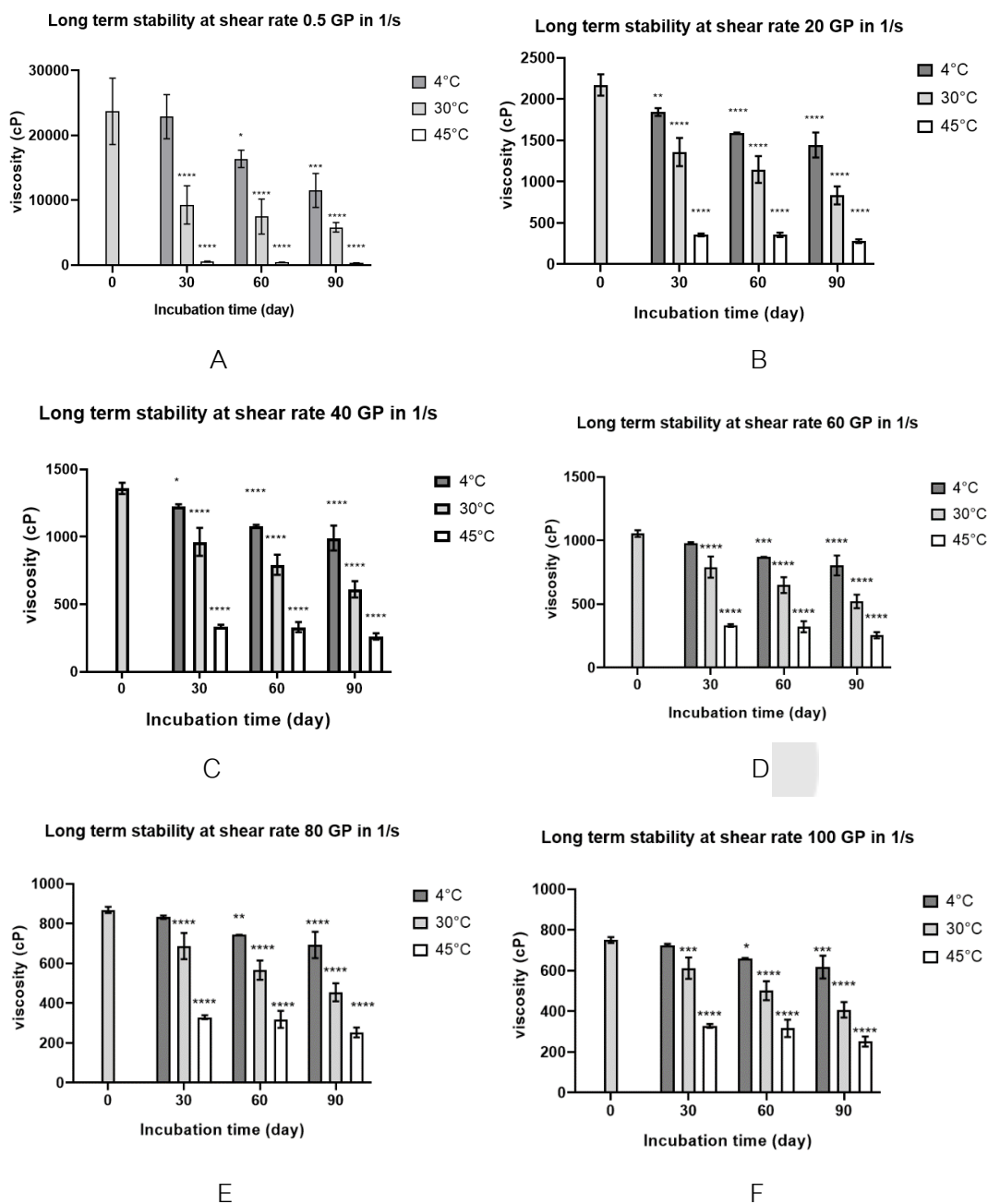


ภาพประกอบ 18 แสดงค่าความหนืดของตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา (สีแดง) 0 วัน, (สีเขียวอ่อน) 30 วัน, (สีน้ำเงิน) 60 และ (สีเขียวยเข้ม) 90 วัน

ตำรับที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสในวันที่ 30 มีค่าความหนืดเท่ากับ 514.31 $\pm$ 99.89, 355.20 $\pm$ 16.63, 335.90 $\pm$ 13.17, 332.05 $\pm$ 11.26, 329.65 $\pm$ 10.15, 327.87 $\pm$ 9.39 cP ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในวันที่ 60 ค่าสัมประสิทธิ์ของความหนืดเท่ากับ 430.78 $\pm$ 8.18, 356.35 $\pm$ 27.12, 330.76 $\pm$ 37.48, 321.91 $\pm$ 42.91, 318.74 $\pm$ 42.88, 316.41 $\pm$ 42.68 cP ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในวันที่ 90 ค่าความหนืดเท่ากับ 341.25 $\pm$ 10.29, 279.73 $\pm$ 23.07, 262.03 $\pm$ 23.42, 255.39 $\pm$ 24.37, 252.87 $\pm$ 24.72, 251.29 $\pm$ 24.68 cP ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสดังแสดงในภาพประกอบที่ 19 ซึ่งพบว่าค่าความหนืดในวันที่ 30, 60 และ 90 ที่ทุกอัตราเฉือนมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 20



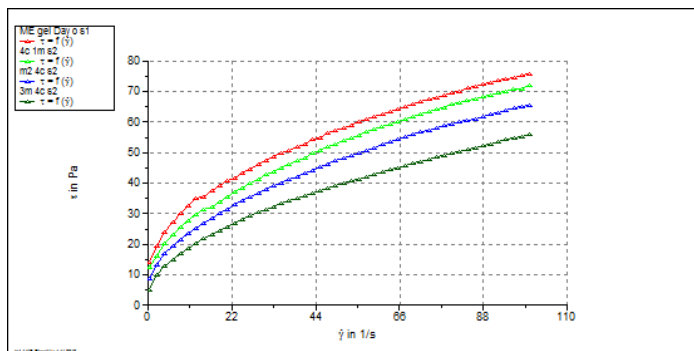
ภาพประกอบ 19 แสดงค่าความหนืดของตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา (สีแดง) 0 วัน, (สีเขียวอ่อน) 30 วัน, (สีน้ำเงิน) 60 และ (สีเขียวเข้ม) 90 วัน



ภาพประกอบ 20 ค่าความหนืดของตำรับเอสเซนส์ที่ทดสอบความคงสภาพโดยวิธี Long term stability โดยวัดที่อัตราเฉือน (A) 0.5, (B) 20, (C) 40, (D) 60, (E) 80 และ (F) 100 รอบต่อวินาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา 0, 30, 60 และ 90 วันเปรียบเทียบกับ หลังเตรียมตำรับทันที

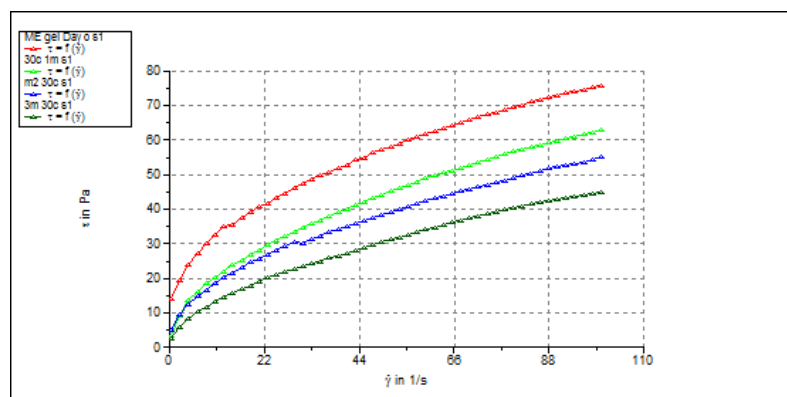
ในการศึกษาค่าความเค้นของตำรับเอสเซนส์โดยการทดสอบความคงสภาพทางกายภาพของตำรับด้วยวิธี Long term stability โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียสซึ่งเก็บข้อมูลที่ 0, 30, 60 และ 90 วัน พบว่าค่าความเค้นของตำรับ (shear stress) หลังเตรียมตำรับทันที มีค่าเท่ากับ 12.02 ± 2.77 , 40.79 ± 2.43 , 53.10 ± 1.64 , 62.59 ± 1.56 , 69.29 ± 1.23 , 74.99 ± 1.48 Pa อัตราเฉือนที่ 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาที วัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ตำรับที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในวันที่ 30 มีค่าความเค้นของตำรับเท่ากับ 11.88 ± 1.97 , 34.62 ± 0.89 , 47.96 ± 0.56 , 58.12 ± 0.50 , 66.31 ± 0.65 , 72.54 ± 0.60 Pa ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในวันที่ 60 ค่าความเค้นเท่ากับ 8.31 ± 0.70 , 29.83 ± 0.15 , 42.13 ± 0.40 , 51.65 ± 0.12 , 59.26 ± 0.03 , 65.88 ± 0.41 Pa ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในวันที่ 90 ค่าความเค้นเท่ากับ 5.78 ± 1.34 , 27.13 ± 2.86 , 38.72 ± 3.62 , 47.73 ± 4.64 , 55.22 ± 5.26 , 61.77 ± 5.57 Pa ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสดังแสดงในภาพประกอบที่ 21 ซึ่งพบว่าค่าความเค้นของตำรับในวันที่ 30 ที่อัตราเฉือน 40 รอบต่อวินาทีและวันที่ 60 ที่อัตราเฉือน 100 รอบต่อวินาทีมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.03, 0.01$) ค่าความเค้นวันที่ 30 ที่อัตราเฉือน 20 รอบต่อวินาทีและวันที่ 60 ที่อัตราเฉือน 80 รอบต่อวินาทีมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.002, 0.001$) ค่าความเค้นวันที่ 90 ที่อัตราเฉือน 0.5 รอบต่อวินาที วันที่ 60 ที่อัตราเฉือน 60 รอบต่อวินาทีและวันที่ 90 ที่อัตราเฉือน 100 รอบต่อวินาทีมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.0007, 0.0002, 0.0002$) ค่าความเค้นวันที่ 60 และ 90 ที่อัตราเฉือน 20, 40 รอบต่อวินาที วันที่ 90 ที่อัตราเฉือน 60 รอบต่อวินาทีและวันที่ 90 ที่อัตราเฉือน 80 รอบต่อวินาทีมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 24



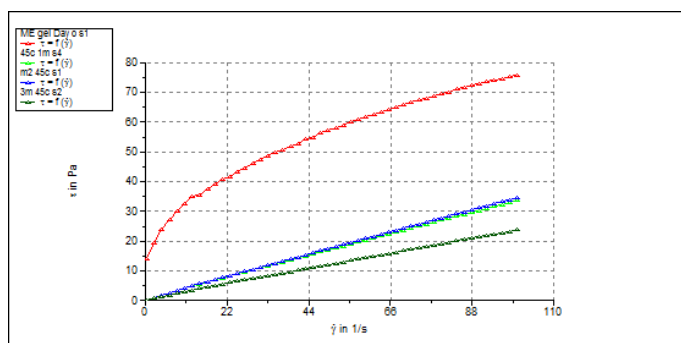
ภาพประกอบ 21 แสดงค่าความเค้นของตัวรับ (shear stress) ของตัวรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา 0, 30, 60 และ 90 วัน แสดงถึงลักษณะของ shear thinning fluid ซึ่งเป็นคุณสมบัติของไหลแบบ Pseudoplastic ซึ่งความหนืดจะลดลงเมื่อเพิ่มอัตราเฉือนมากขึ้น

ตัวรับที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสในวันที่ 30 มีค่าความเค้นของตัวรับเท่ากับ 4.66 ± 1.51 , 25.52 ± 3.20 , 37.62 ± 4.06 , 46.99 ± 4.94 , 54.76 ± 5.22 , 61.21 ± 5.25 Pa ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในวันที่ 60 ค่าความเค้นเท่ากับ 3.75 ± 1.36 , 21.56 ± 3.04 , 30.98 ± 2.91 , 38.56 ± 3.71 , 45.12 ± 3.83 , 50.14 ± 4.65 Pa ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในวันที่ 90 ค่าความเค้นเท่ากับ 2.92 ± 0.38 , 15.64 ± 2.06 , 23.90 ± 2.38 , 30.51 ± 3.09 , 36.26 ± 3.60 , 40.73 ± 3.81 Pa ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสดังแสดงในภาพประกอบที่ 22 ซึ่งพบว่าค่าความเค้นของตัวรับในวันที่ 30 ที่อัตราเฉือน 100 รอบต่อวินาทีมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.001$) และในวันที่ 30, 60 และ 90 ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80 และ 100 รอบต่อวินาทีนอกจากนั้นมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 24



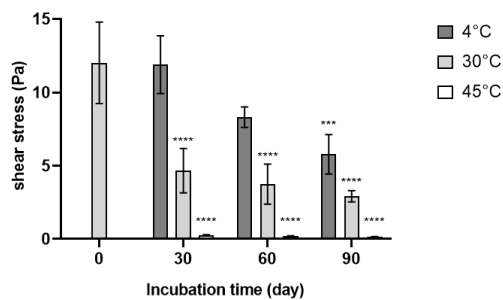
ภาพประกอบ 22 แสดงค่าความเค้นของตัวรับ (shear stress) ของตัวรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา (สีแดง) 0 วัน, (สีเขียวอ่อน) 30 วัน, (สีน้ำเงิน) 60 และ (สีเขียวเข้ม) 90 วัน วัน แสดงถึงลักษณะของ shear thinning fluid ซึ่งเป็นคุณสมบัติของไหลแบบ Pseudoplastic ซึ่งความหนืดจะลดลงเมื่อเพิ่มอัตราเฉือนมากขึ้น

ตัวรับที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสในวันที่ 30 มีค่าความเค้นของตัวรับเท่ากับ 0.26 ± 0.05 , 6.67 ± 0.31 , 13.13 ± 0.51 , 19.72 ± 0.67 , 26.27 ± 0.81 , 32.79 ± 0.93 Pa ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในวันที่ 60 ค่าความเค้นเท่ากับ 0.22 ± 0.01 , 6.69 ± 0.51 , 12.93 ± 1.46 , 19.12 ± 2.55 , 25.40 ± 3.42 , 31.64 ± 4.27 Pa ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในวันที่ 90 ค่าความเค้นเท่ากับ 0.17 ± 0.01 , 5.25 ± 0.43 , 10.24 ± 0.92 , 15.17 ± 1.45 , 20.15 ± 1.97 , 25.13 ± 2.47 Pa ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสดังแสดงในภาพประกอบที่ 23 ซึ่งพบว่าค่าความเค้นของตัวรับในวันที่ 30, 60 และ 90 ที่ทุกอัตราเฉือนมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 24



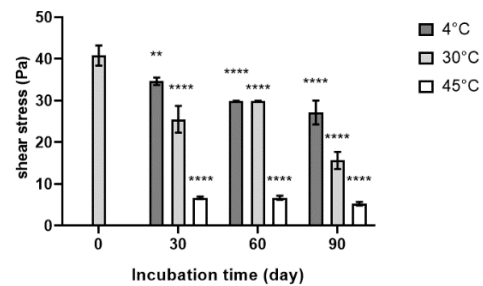
ภาพประกอบ 23 แสดงค่าความเค้นของตัวรับ (shear stress) ของตัวรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา (สีแดง) 0 วัน, (สีเขียวย่อน) 30 วัน, (สีน้ำเงิน) 60 และ (สีเขียวย่น) 90 วัน วัน แสดงถึงลักษณะของ newtonian ในวันที่ 30, 60 และ 90 วัน ซึ่งเป็นคุณสมบัติของไหลแบบ newtonian ซึ่งความหนืดไม่ขึ้นกับอัตราเฉือน

Long term stability at shear rate 0.5 GP in 1/s



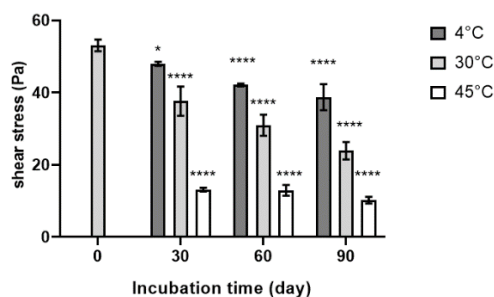
A

Long term stability at shear rate 20 GP in 1/s



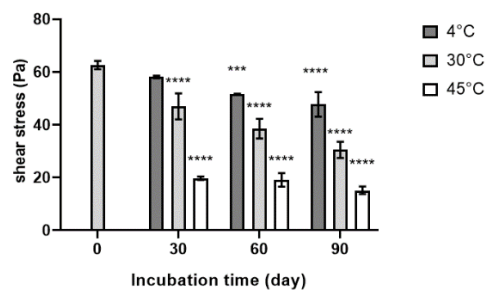
B

Long term stability at shear rate 40 GP in 1/s



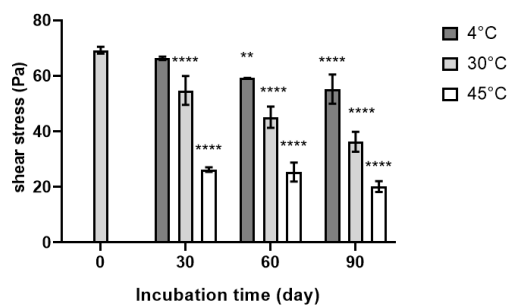
C

Long term stability at shear rate 60 GP in 1/s



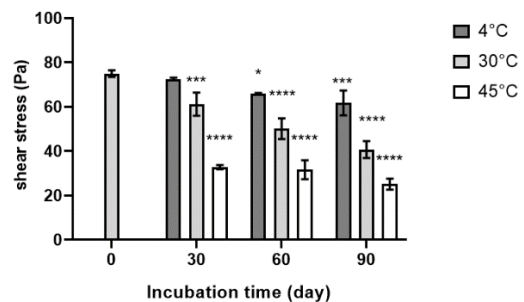
D

Long term stability at shear rate 80 GP in 1/s



E

Long term stability shear rate at 100 GP in 1/s



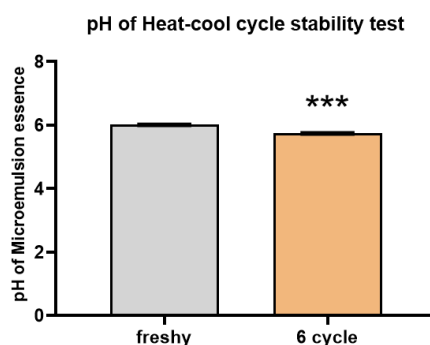
F

ภาพประกอบ 24 ค่าความเค้นของตำรับเอสเซนส์ที่ทดสอบความคงสภาพโดยวิธี Long term stability โดยวัดที่อัตราเฉือน 0.5(A), 20(B), 40(C), 60(D), 80(E) และ 100 รอบต่อวินาที(F) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา 0, 30, 60 และ 90 วันเปรียบเทียบกับหลังเตรียมตำรับทันที

การทดสอบความคงสภาพทางกายภาพของตำรับด้วยวิธี heating-cooling cycle stability ที่เป็นการทดสอบความคงสภาพในสภาวะเร่ง (Accelerated Storage Test) ที่สามารถดูความคงสภาพของตำรับได้โดยใช้ระยะเวลาที่น้อยลง โดยจะประเมินทางกายภาพ คือ ความใส ความขุ่นและการตกตะกอนด้วยตาเปล่า วัดค่าความหนืด ค่า pH ของตำรับ เปรียบเทียบผลก่อนและหลังการทดสอบ จากการเตรียมผลิตภัณฑ์เอสเซนส์ทันทีพบว่าผลิตภัณฑ์มีสีเหลือง ไม่มีการตกตะกอน ไม่มีการแยกชั้นของตำรับเอสเซนส์ หลังทำ heating-cooling cycle stability พบว่ามีสีเหลืองขุ่นขึ้นเล็กน้อย ไม่มีการตกตะกอน ไม่พบการแยกชั้นของตำรับเอสเซนส์ ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเหลวขึ้นเล็กน้อยแสดงในภาพประกอบที่ 25 มีความหนืดลดลง ค่า pH ของผลิตภัณฑ์เอสเซนส์เริ่มต้นหลังจากเตรียมเสร็จเท่ากับ 6.01 ± 0.04 และค่า pH ของผลิตภัณฑ์เอสเซนส์หลังจากทำ heating-cooling cycle stability เท่ากับ 5.74 ± 0.04 ซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ดังแสดงในภาพประกอบที่ 26



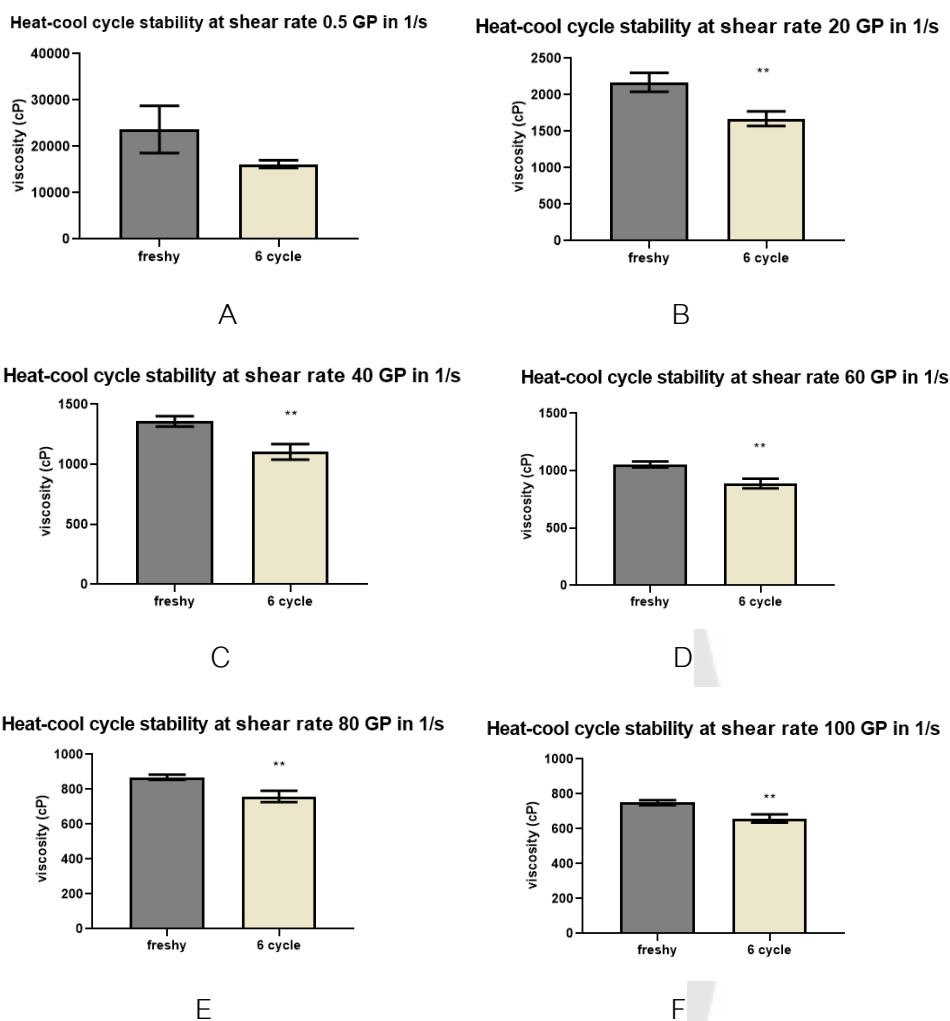
ภาพประกอบ 25 ตำรับเอสเซนส์ที่เก็บไว้หลังครบทดสอบความคงสภาพด้วยวิธี
heating-cooling cycle stability



ภาพประกอบ 26 แสดงค่า pH ของตำรับเอสเซนส์ที่เวลาหลังเตรียมตำรับเสร็จทันทีเปรียบ
หลังครบทดสอบความคงสภาพด้วยวิธี heating-cooling cycle stability

*** $p < 0.001$ เมื่อเปรียบเทียบกับหลังเตรียมตำรับทันที

ค่าความหนืดตอนเริ่มต้นหลังจากเตรียมเสร็จเท่ากับ 23678.84 ± 5114.17 , 2172.03 ± 129.29 , 1358.28 ± 42.05 , 1053.95 ± 26.28 , 869.19 ± 15.28 , 750.12 ± 14.38 cP ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและค่าความหนืดหลังทำ heating-cooling cycle stability เท่ากับ 16181.72 ± 838.97 , 1671.98 ± 99.27 , 1104.47 ± 65.24 , 887.76 ± 42.56 , 758.82 ± 32.90 , 658.96 ± 23.81 cP ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งค่าความหนืดที่จุด 0.5 รอบต่อวินาทีไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในอัตราเฉือน 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีที่มีค่าความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.006, 0.004, 0.004, 0.006, 0.006$) เมื่อเปรียบเทียบกับหลังเตรียมตำรับทันที ดังแสดงในภาพประกอบที่ 27

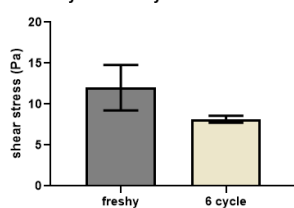


ภาพประกอบ 27 ค่าความหนืดของตำรับเอสเซนส์ที่ทดสอบความคงสภาพโดยวิธี heating-cooling cycle stability โดยวัดที่อัตราเฉือน (A) 0.5, (B) 20, (C) 40, (D) 60, (E) 80 และ (F) 100 รอบต่อวินาทีเปรียบเทียบกับหลังเตรียมตำรับทันที

ค่าความเค้นของตำรับเอสเซนส์โดยการทดสอบความคงสภาพทางกายภาพของตำรับด้วยวิธี heating-cooling cycle stability โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียสซึ่งเก็บข้อมูลที่ 0, 30, 60 และ 90 วัน พบว่าค่าความเค้นของตำรับ (shear stress) หลังเตรียมตำรับทันทีที่มีค่าเท่ากับ 12.02 ± 2.77 , 40.79 ± 2.43 , 53.10 ± 1.64 , 62.59 ± 1.56 , 69.29 ± 1.23 , 74.99 ± 1.48 Pa ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีวัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และค่าความเค้นของตำรับเอสเซนส์หลังจากทดสอบความคงสภาพทางกายภาพของ

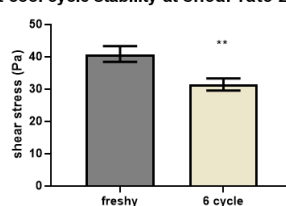
ดำรับด้วยวิธี heating-cooling cycle stability พบว่ามีค่าเท่ากับ 8.15 ± 0.41 , 31.40 ± 1.87 , 43.18 ± 2.55 , 53.50 ± 2.53 , 60.48 ± 2.61 , 65.90 ± 2.37 Pa ที่อัตราเฉือน 0.5, 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีวัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งค่าความเค้นของดำรับเอสเซนส์ที่จุด 0.5 รอบต่อวินาทีไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในอัตราเฉือน 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีมีค่าความเค้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.006, 0.004, 0.004, 0.006, 0.006$) เมื่อเปรียบเทียบกับหลังเตรียมดำรับทันที ดังแสดงในภาพประกอบที่ 28

Heat-cool cycle stability at shear rate 0.5 GP in 1/s



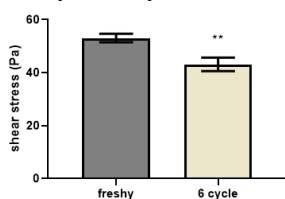
A

Heat-cool cycle stability at shear rate 20 GP in 1/s



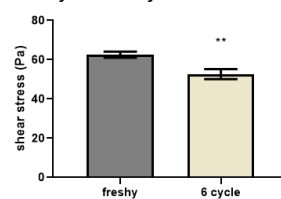
B

Heat-cool cycle stability at shear rate 40 GP in 1/s



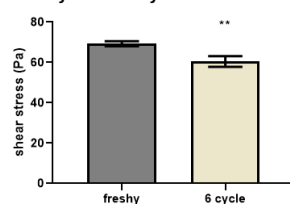
C

Heat-cool cycle stability at shear rate 60 GP in 1/s



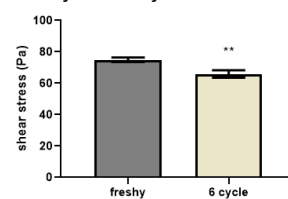
D

Heat-cool cycle stability at shear rate 80 GP in 1/s



E

Heat-cool cycle stability at shear rate 100 GP in 1/s



F

ภาพประกอบ 28 ค่าความเค้นของดำรับเอสเซนส์ที่ทดสอบความคงสภาพโดยวิธี heating-cooling cycle stability โดยวัดที่อัตราเฉือน (A) 0.5, (B) 20, (C) 40, (D) 60, (E) 80 และ (F) 100 รอบต่อวินาทีเปรียบเทียบกับหลังเตรียมดำรับทันที

บทที่ 5

สรุปผลงานวิจัย อภิปรายและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอม พบว่าน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่สกัดด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ (water distillation) มีฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้เป็นอย่างดีซึ่งมีค่าป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตหรือค่า SPF สูงถึง 33.34 ± 1.18 ซึ่งได้ระดับการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตในระดับสูงและสามารถป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้ร้อยละ 96-97 แต่น้ำมันเหง้าเปราะหอมมีค่า critical wavelength ที่บ่งบอกถึงความสามารถในการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของน้ำมันเหง้าเปราะหอมเท่ากับ 337.78 ± 0.67 ซึ่งแสดงถึงซึ่งแสดงว่าน้ำมันเหง้าเปราะหอมไม่มีคุณสมบัติสารถกันแดดแบบ broad spectrum เนื่องจากค่า critical wavelength ที่ได้มีค่าที่น้อยกว่า 370 นาโนเมตร (Lionetti & Rigano, 2017) ผู้วิจัยจึงเล็งเห็นว่าน้ำมันเหง้าเปราะหอมเหมาะสมสำหรับนำมาพัฒนาเป็นตำรับไมโครอิมัลชันที่มีฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตเป็นหลัก ในการศึกษาตำรับไมโครอิมัลชันครั้งนี้ผู้วิจัยได้เลือกใช้สารลดแรงตึงผิวคือ tween 80[®] และสารลดแรงตึงผิวร่วมคือ propylene glycol โดยใช้สัดส่วนเป็น tween 80[®] เป็นสารลดแรงตึงผิวเพียงอย่างเดียว สัดส่วนระหว่าง tween 80[®] ต่อ propylene glycol ในอัตราส่วน 1:1, 1:2 และ 1:3 ตามลำดับ เพื่อหาสัดส่วนที่เหมาะสมในการตั้งตำรับไมโครอิมัลชันและบันทึกผลลงในแผนภาพไตรแวกภาคเทียม พบว่าสัดส่วนที่ใช้ tween 80[®] เป็นสารลดแรงตึงผิวเพียงอย่างเดียวมีบริเวณการเกิดไมโครอิมัลชันได้มากที่สุด ผู้วิจัยจึงนำตำรับไมโครอิมัลชันที่มีสัดส่วนที่มีปริมาณน้ำมันเหง้าเปราะหอมมากที่สุดมาทำการทดสอบต่อซึ่งใช้อัตราส่วนน้ำมันเหง้าเปราะหอมต่อสารลดแรงตึงผิวต่อน้ำที่ 3:7:1

ในการศึกษาชนิดของไมโครอิมัลชัน พบว่าเป็นไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w emulsion) จากการที่ไมโครอิมัลชันย้อมติดสี sudan IV แสดงถึงอนุภาคไมโครอิมัลชันที่เป็นน้ำมันในการศึกษาความคงสภาพทางกายภาพและทางเคมีของไมโครอิมัลชัน โดยการวัดขนาดอนุภาค การกระจายของขนาดอนุภาค และค่าศักย์ซีต้าของไมโครอิมัลชันที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 14, 28, 42 และ 56 วัน พบว่าขนาดอนุภาค (size) การกระจายของขนาดอนุภาค (polydispersity index; Pdl) และค่าศักย์ซีต้า (zeta potential) ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ซึ่งอาจเกิดจากภายในระบบของไมโครอิมัลชันมีความคงสภาพทางอุณหพลศาสตร์ (Mehta, Rathod, Shah, & Shah, 2015) ส่งผลให้ตำรับไมโครอิมัลชันไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ในส่วนการกระจายของขนาดอนุภาค

(polydispersity index; Pdl) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 42 และ 56 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) ซึ่งเปลี่ยนแปลงของการกระจายของขนาดอนุภาคอาจเป็นผลมาจากสารลดแรงตึงผิวที่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเกิดการปรับลดลงของอุณหภูมิ (Su et al., 2017) ค่าศักย์ซีต้า (zeta potential) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ในวันที่ 56 แสดงถึงความคงตัวของประจุไฟฟ้าระหว่างอนุภาคที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ตามทฤษฎีแล้วค่าศักย์ซีต้าควรอยู่ในช่วงมากกว่าค่า ± 30 mV (Cheong, Tan, & Nyam, 2017) ถึงจะรักษาความคงสภาพของตำรับไว้ได้ดีและไม่ทำให้เกิดการรวมตัวกันระหว่างอนุภาค แต่ด้วยขนาดอนุภาคที่เล็กของตำรับไมโครอิมัลชันทำให้ค่าศักย์ซีต้ามีผลกระทบต่อความคงสภาพได้น้อยลง (Sabale & Vora, 2012) ในการศึกษาความคงสภาพของสาร ethyl cinnamate ในตำรับไมโครอิมัลชันพบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสสามารถคงปริมาณสารสำคัญได้มากที่สุดเมื่อระยะเวลาผ่านไปโดยสามารถคงไว้ได้ถึงร้อยละ 79.58 เมื่อระยะเวลาผ่านไป 56 วัน เปรียบเทียบกับความสามารถคงปริมาณสารสำคัญของอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่ร้อยละ 67.61 และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสที่ร้อยละ 54.85 เมื่อครบเวลาเดียวกัน จึงสรุปได้ว่าตำรับไมโครอิมัลชันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีประสิทธิภาพคงปริมาณสาร ethyl cinnamate ได้ดีที่สุด รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสตามลำดับ แต่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในวันที่ 14 นั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญนั้นแสดงถึงการคงสภาพสาร ethyl cinnamate ได้ดีกว่าอุณหภูมิอื่นในช่วงต้น ในส่วนค่าการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตบีของตำรับไมโครอิมัลชันจากเหง้าเปราะหอมที่อัตราส่วน 3:7:1 เท่ากับ 18.60 ± 2.71 ซึ่งได้ระดับการป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตบีในระดับปานกลางและสามารถป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตบีได้ร้อยละ 93-95 และมีค่า critical wavelength เท่ากับ 337.00 ± 0.00 ซึ่งแสดงว่าไมโครอิมัลชันไม่มีคุณสมบัติสารกันแดดแบบ broad spectrum เช่นเดียวกับน้ำมัน

การพัฒนาผลิตภัณฑ์เอสเซนส์จากน้ำมันเหง้าเปราะหอมที่มีประสิทธิภาพป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตบีในระดับปานกลางโดยตั้งตำรับและใช้สัดส่วนไมโครอิมัลชันที่ร้อยละ 85 ผู้วิจัยได้คัดเลือกตำรับที่ 1 เนื่องจากตำรับมีลักษณะไม่แยกชั้นและซึมผ่านผิวได้ดีมาทำการทดสอบความคงสภาพทางกายภาพและเคมีหลังเตรียมตำรับทันทีพบว่าได้ตำรับที่มีสีเหลือง เป็นเนื้อเดียวกัน ไม่แยกชั้นไม่พบการตกตะกอน การทดสอบความคงสภาพทางกายภาพแบบ Long term stability พบว่าลักษณะทางกายภาพมีความคงสภาพดีที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียสซึ่งไม่พบการแยกชั้นในตำรับในแต่ละช่วงเวลาแต่ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสจะสังเกตเห็นว่ามีความหนืดของตำรับลดลงมากกว่าที่ 4 องศาเซลเซียส ในอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสพบการแยกชั้นในตำรับ

ตั้งแต่ 30 วันเป็นต้นมาซึ่งแสดงถึงความไม่คงสภาพของตำรับ ดังนั้นผลิตภัณฑ์ตำรับนี้จึงไม่ควรไว้ในสถานที่ที่มีความร้อนสูงกว่า 30 องศาเซลเซียสเพื่อรักษาสภาพของตำรับไว้ให้ดีที่สุด ในส่วนค่า pH ที่ 4, 30 และ 45 องศาเซลเซียส มีค่าลดลงลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) จากผลทำให้ทราบวาระยะเวลาสัมพันธ์กับความเป็นกรดของตำรับ ผู้วิจัยจึงแนะนำให้ควรเก็บผลิตภัณฑ์อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ที่น้อยที่สุดเพื่อคงสภาพตำรับให้ดีที่สุด ในการทดสอบค่าความหนืดพบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดลดลงน้อยที่สุดที่ทุกอัตราความเร็วและทุกระยะเวลา รวมถึงไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ที่อัตราเฉือน 0.5 รอบต่อวินาที ซึ่งแสดงถึงความคงสภาพของค่าความหนืดในตำรับได้แต่ที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ที่อัตราเฉือน 0.5 รอบต่อวินาที ทำให้สรุปได้ว่าที่อุณหภูมิสูงขึ้นมีผลกระทบต่อค่าความหนืดที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสที่พบค่าความหนืดที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในทุกอัตราเฉือนและที่ทุกระยะเวลาเมื่อเปรียบเทียบกับหลังเตรียมตำรับทันทีซึ่งแสดงให้เห็นถึงผลจากอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ในส่วนค่าความเค้นของตำรับที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียสที่ทุกระยะเวลา ตำรับยังมีค่าความเค้นแสดงออกมาในรูปแบบ shear thinning fluid ซึ่งเป็นคุณสมบัติของไหลแบบ pseudoplastic คือตำรับจะมีความหนืดลดลงเมื่ออัตราเฉือนเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มแรงไปกระทำกับตำรับมากขึ้นจะทำให้ตำรับมีการไหลที่ง่ายมากขึ้นแต่พบว่าที่ 30 องศาเซลเซียสมีค่าความเค้นเปลี่ยนแปลงลดลงมากกว่าที่ 4 องศาเซลเซียสอยู่พอสมควร ซึ่งอาจทำให้สัมผัสเวลาใช้ตำรับอาจแตกต่างกันเมื่อนำตำรับไว้ในที่ต่างอุณหภูมิ ส่วนในอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสพบว่ามีค่าความเค้นเปลี่ยนแปลงเป็นของไหลแบบ newtonian คือมีค่าความหนืดที่คงที่เมื่อเพิ่มแรงอัตราเฉือนและตำรับยังมีค่าความเค้นที่เปลี่ยนแปลงไปอย่างมีนัยสำคัญในทุกระยะเวลา ซึ่งสอดคล้องกับความคงสภาพของตำรับที่ไม่ดีเมื่อเก็บตำรับไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ผู้วิจัยพบว่าการเก็บรักษาตำรับไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจะทำให้ตำรับมีความคงสภาพดีที่สุดทั้งค่าสัมประสิทธิ์ของความหนืดและค่าความเค้นของตำรับและไม่ควรไว้ในอุณหภูมิสูงกว่า 30 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลานานๆ

ในระบบการทำ heating-cooling cycle stability ครบ 6 รอบ พบว่าตำรับมีสีเหลืองขุ่นขึ้นเล็กน้อย ไม่พบการแยกชั้นของเอสเซนส์ ไม่มีการตกตะกอน ผลิตภัณฑ์มีค่าความหนืดลดลง ค่า pH ของผลิตภัณฑ์เอสเซนส์เริ่มต้นหลังจากเตรียมเสร็จเท่ากับ 6.01 ± 0.04 และค่า pH ของผลิตภัณฑ์เอสเซนส์หลังจากทำ heating-cooling cycle stability เท่ากับ 5.74 ± 0.04 ซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ค่าความหนืดหลังจาก heating-cooling cycle stability ที่จุด 0.5

รอบต่อวินาทีไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่ที่อัตราเฉือน 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีมีค่าความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ซึ่งแสดงว่าอุณหภูมิที่แตกต่างกันในสภาวะแรงมีผลทำให้ค่าความหนืดของตัวรับเอสเซนส์เวลานำไปใช้มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนค่าความเค้นของตัวรับเอสเซนส์ที่จุด 0.5 รอบต่อวินาทีไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในอัตราเฉือน 20, 40, 60, 80, 100 รอบต่อวินาทีมีค่าความเค้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับหลังเตรียมตัวรับทันทีซึ่งแสดงว่าอุณหภูมิที่แตกต่างกันในสภาวะแรงมีผลทำให้ค่าความเค้นของตัวรับเอสเซนส์เวลานำไปใช้มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน

สรุปโดยรวมของตัวรับเอสเซนส์ที่นำมาทดสอบพบว่ามีความคงสภาพในระดับปานกลาง ซึ่งสังเกตจากลักษณะทางกายภาพที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียสในระยะเวลา 90 วันและหลังทำ heating-cooling cycle stability ที่ตัวรับไม่มีการแยกชั้นของตัวรับ แต่พบการแยกชั้นในการเก็บตัวรับไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสตั้งแต่วันที่ 30 ซึ่งอาจเกิดจากตัวสาร SCMC ซึ่งเป็น polymer ในตัวรับเกิดการทำปฏิกิริยากับความร้อนที่สูงทำให้ไม่สามารถคงสภาพตัวรับไว้ได้จึงเกิดการแยกชั้นโดยชัดเจน หรืออาจเกิดจากสาร antioxidant และ preservative ในตัวรับที่ใส่ลงไปทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางคุณสมบัติของตัวรับไมโครอิมัลชันจนทำให้เกิดความไม่คงตัวของตัวรับเอสเซนส์ได้

ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาวิจัยฤทธิ์ป้องกันรังสีอัลตราไวโอเล็ตของไมโครอิมัลชันจากน้ำมันเหง้าเปราะหอมเป็นการวิจัยที่มีประโยชน์ในด้านการลดการใช้สารเคมีที่ทำให้เกิดอาการแพ้ ซึ่งทดแทนด้วยการใช้สารจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ใกล้เคียงกัน รวมถึงขั้นตอนในการเตรียมสามารถทำได้ง่ายไม่ซับซ้อน ทำให้ง่ายในการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ในรูปแบบอื่นได้อย่างหลากหลาย ในขั้นตอนต่อไปควรศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัยในมนุษย์ทดสอบอาการแพ้จากผลิตภัณฑ์ต่อไปเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่มีความน่าเชื่อถือด้านความปลอดภัย

บรรณานุกรม

- Anbu Jeba Sunilson John Samuel, A. K., Dinesh Kumar Chellappan, Rejitha Gopinath, Suraj Radhamani, Hj Azman Husain, Vignesh Muruganandham, Proom Promwichit. (2010). Ethnomedical survey of plants used by the Orang Asli in Kampung Bawong, Perak, West Malaysia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 6(5).
- Ariviani, S., Anggrahini, S., Naruki, S., & Raharjo, S. (2015). Characterization and chemical stability evaluation of β -carotene microemulsions prepared by spontaneous emulsification method using VCO and palm oil as oil phase. 22, 2432-2439.
- Athikomkulchai, S., Vayumhasuwan, P., Tunvichien, S., Piyapong, S., Malaipuang, S., Ruangrunsi, N. (2007). The development of sunscreen products from *Kaempferia galanga*. *Journal of health research*, 21(4), 253-256
- Burguera, J. L., & Burguera, M. (2012). Analytical applications of emulsions and microemulsions. *Talanta*, 96, 11-20.
- Cheong, A. M., Tan, C. P., & Nyam, K. L. (2017). Physicochemical, oxidative and anti-oxidant stabilities of kenaf seed oil-in-water nanoemulsions under different storage temperatures. *Industrial Crops and Products*, 95, 374-382.
- Evaluation of sunscreens using the critical wavelength test. (2013). *Journal of the American Academy of Dermatology*, 68(4, Supplement 1), AB185.
- Kanjanapothi, D., Panthong, A., Lertprasertsuke, N., Taesotikul, T., Rujjanawate, C., Kaewpinit, D., . . . Pitasawat, B. (2004). Toxicity of crude rhizome extract of *Kaempferia galanga* L. (Proh Hom). *Journal of Ethnopharmacology*, 90(2), 359-365.
- Korac, R. R., & Khambholja, K. M. (2011). Potential of herbs in skin protection from ultraviolet radiation. *Pharmacogn Rev*, 5(10), 164-173.
- Krause, M., Klit, A., Blomberg Jensen, M., Soeborg, T., Frederiksen, H., Schlumpf, M., . . . Drzewiecki, K. T. (2012). Sunscreens: are they beneficial for health? An overview of endocrine disrupting properties of UV-filters. *Int J Androl*, 35(3), 424-436.
- Latha, M. S., Martis, J., Shobha, V., Sham Shinde, R., Bangera, S., Krishnankutty, B., . . . Naveen Kumar, B. R. (2013). Sunscreening agents: a review. *The Journal of Clinical*

- and *Aesthetic Dermatology*, 6(1), 16-26.
- Lionetti, N., & Rigano, L. (2017). The New Sunscreens among Formulation Strategy, Stability Issues, Changing Norms, Safety and Efficacy Evaluations. *Cosmetics*, 4(2), 15.
- Liu, D., Kobayashi, T., Russo, S., Li, F., Plevy, S. E., Gambling, T. M., . . . Mumper, R. J. (2013). In vitro and in vivo evaluation of a water-in-oil microemulsion system for enhanced peptide intestinal delivery. *AAPS J*, 15(1), 288-298.
- Mehta, D., Rathod, H., Shah, D., & Shah, C. (2015). A Review on Microemulsion Based Gel: A Recent Approach for Topical Drug Delivery System. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 8, 118.
- Mishra, A., Mishra, A., & Chattopadhyay, P. (2012). Assessment of In vitro Sun Protection Factor of *Calendula Officinalis* L. (Asteraceae) Essential Oil Formulation. *J Young Pharm*, 4(1), 17-21.
- Mishra, A. K., Mishra, A., & Chattopadhyay, P. (2011). Herbal Cosmeceuticals for Photoprotection from Ultraviolet B Radiation: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 10(3).
- Narayanaswamy, R., & Ismail, I. S. (2015). Cosmetic potential of Southeast Asian herbs: an overview. *Phytochemistry Reviews*, 14(3), 419-428.
- Raina, A. P., & Abraham, Z. (2015). Chemical profiling of essential oil of *Kaempferia galanga* L. germplasm from India. *Journal of Essential Oil Research*, 28(1), 29-34.
- Sabale, V., & Vora, S. (2012). Formulation and evaluation of microemulsion-based hydrogel for topical delivery. *International journal of pharmaceutical investigation*, 2(3), 140-149.
- Sahoo, S., Parida, R., Singh, S., Padhy, R. N., & Nayak, S. (2014). Evaluation of yield, quality and antioxidant activity of essential oil of in vitro propagated *Kaempferia galanga* Linn. *Journal of Acute Disease*, 3(2), 124-130.
- Sayre, R. M., Agin, P.P., Levee, G.I. and Marlowe, E. (1979). Comparison of in Vivo and in Vitro Testing of Sunscreening Formulas. *Photochemistry and Photobiology*(29), 559-566.
- Sisak, M. A. A., Daik, R., & Ramli, S. (2017). Study on the effect of oil phase and co-surfactant on microemulsion systems. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*,

21(6), 1409-1416.

Su, R., Yang, L., Wang, Y., Yu, S., Guo, Y., Deng, J., . . . Jin, X. (2017). Formulation, development, and optimization of a novel octyldodecanol-based nanoemulsion for transdermal delivery of ceramide IIIB. *International journal of nanomedicine*, 12, 5203-5221.

Sugibayashi, K., Todo, H., & Oda, A. (2016). Effect of Layered Application of Different Cosmeceutical Formulations Containing Rhododendrol. *日本化粧品学会誌*, 40(4), 259-261.

Tewtrakul, S., & Subhadhirasakul, S. (2007). Anti-allergic activity of some selected plants in the Zingiberaceae family. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(3), 535-538.

Watson, M., Holman, D. M., & Maguire-Eisen, M. (2016). Ultraviolet Radiation Exposure and Its Impact on Skin Cancer Risk. *Semin Oncol Nurs*, 32(3), 241-254.

Xu, J., Fan, Q-J., Yin, Z-Q., Li, X-T., Du, Y-H., Jia, R-Y., Wang, K-Y., Lv, C., Ye, G., Geng, Y., Su, G., Zhao, L., Hu, T-X., Shi, F., Zhang, L., Wu, C-L., Tao, C., Zhang, Y-X., Shi, D-X. (2010). The preparation of neem oil microemulsion (*Azadirachta indica*) and the comparison of acaricidal time between neem oil microemulsion and other formulations in vitro. *Veterinary Parasitology*, 169(3), 399-403.

กระทรวงสาธารณสุข, ก. (2003). ประมวลผลงานวิจัยด้านพิษวิทยา ของสถาบันวิจัยสมุนไพรมะ เล่ม 1.

ชยันต์ พิเชียรสุนทร, ศุภชัย ดิยวรรณนท์, & วิเชียร จีรวงศ์. (2555). คู่มือเภสัชกรรมแผนไทยเล่ม 6 เภสัชกรรม. อัมรินทร์พรินต์ติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.

อัจฉราภรณ์ สิงห์หาญ, & รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2558). การพัฒนาตำรับไมโครอิมัลชันเพื่อช่วยเพิ่มความคงสภาพของสารสกัดชาเขียว. *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน*, 11(4), 40-56.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ศักดิ์ดนัย ดิษฐ์ศรี
วัน เดือน ปี เกิด	19 สิงหาคม 2534
สถานที่เกิด	นครสวรรค์
วุฒิการศึกษา	ปริญญาตรี สาขาการแพทย์แผนไทยประยุกต์บัณฑิต ม.เทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ที่อยู่ปัจจุบัน	160/1 ม.3 ต.ทับกฤช อ.ชุมแสง จ.นครสวรรค์

