



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย

การพัฒนาเภสัชภัณฑ์ต้นแบบนาโนอิมัลชันสเปรย์จากน้ำมันDamascenone
ในสารสกัดใบผักบุ้งทะเลส่งเสริมภูมิปัญญาท้องถิ่นในการรักษาอาการแพ้ผื่นคันและพิษ
จากแมงกะพรุน

Development of Pharmaceutical nanoemulsion spray from
Damascenone oil in *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. leaf extract to
promotes local wisdom in the treatment of allergic dermatitis and
jellyfish poisoning

ภญ. ดร. ณัฐฉิณี ธีรกุลกิตติพงศ์

ภญ. สุธาบดี ม่วงมี

ดร. สลิล ชื่นโรจน์

ผศ. ดร. มารุต ตั้งวัฒนาชูลีพร

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562

มหาวิทยาลัยบูรพา

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย การพัฒนาเภสัชภัณฑ์ต้นแบบนาโนอิมัลชันสเปรย์จากน้ำมัน

Damascenone

ในสารสกัดใบผักบุ้งทะเลส่งเสริมภูมิปัญญาท้องถิ่นในการรักษาอาการแพ้ผื่นคันและพิษ
จากแมงกะพรุน

Development of Pharmaceutical nanoemulsion spray from
Damascenone oil in *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. leaf extract to
promotes local wisdom in the treatment of allergic dermatitis and
jellyfish poisoning

ภญ. ดร. ณัฐฉิณี อีร์กุลกิตติพงศ์

ภญ. สุธาบตี ม่วงมี

ดร. สลิล ชื่นโรจน์

ผศ. ดร. มารุต ตั้งวัฒนาชุสิทธิ์

กุมภาพันธ์ 2564

การพัฒนาเภสัชภัณฑ์ต้นแบบนาโนอิมัลชันสเปรย์จากน้ำมัน Damascenone ในสารสกัด
ใบผักบุงทะเลส่งเสริมภูมิปัญญาท้องถิ่นในการรักษาอาการแพ้ผื่นคันและพิษจาก
แมงกะพรุน

Development of Pharmaceutical nanoemulsion spray from Damascenone
oil in *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. leaf extract to promotes local
wisdom in the treatment of allergic dermatitis and jellyfish poisoning

ณัฐฉิณี ธีรกุลกิตติพงศ์ สุธาบตี ม่วงมี สลิล ชันโรจน์ และมารุต ตั้งวัฒนาชูลีพร

บทคัดย่อ

การเพิ่มประสิทธิภาพของสมุนไพรด้วยนาโนเทคโนโลยีในรูปแบบของอนุภาคนาโนและระบบนำส่งทางผิวหนัง เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการนำส่งสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนังได้ดีขึ้น ช่วยลดความเป็นพิษต่อเซลล์ ช่วยเพิ่มความคงตัวของสารสำคัญ และง่ายต่อการเตรียมสูตรตำรับทั้งในส่วนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาน้ำมัน Damascenone และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ที่เป็นสารออกฤทธิ์สำคัญจากใบผักบุงทะเล มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบนาโนอิมัลชันซึ่งทำให้สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ได้ดีขึ้น มีความคงตัวสูง เพื่อเพิ่มมูลค่าและนำไปสู่การพัฒนาเทคโนโลยีและนวัตกรรมใหม่ โดยการศึกษาวิธีการสกัดต่างๆเพื่อหาวิธีที่เหมาะสมเพื่อให้ได้สารสกัดปริมาณสูงและมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง จากนั้นจึงวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารสำคัญในผักบุงทะเล เพื่อเลือกสารสกัดจากวิธีการสกัดที่ดีที่สุดในการพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์เพื่อนำไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ได้ ทดสอบลักษณะทางกายภาพและลักษณะทางเคมีของต้นแบบผลิตภัณฑ์ จากการทดสอบพบว่า การสกัดใบผักบุงทะเลแห้งด้วยวิธีการพ่นฝอย (spray dry) ให้ปริมาณสารสกัดสูงที่สุด มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง ที่ความเข้มข้น 250 µg/ml สามารถลดปริมาณ NO radical ในเซลล์ Raw264.7 ได้ดี ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ Raw264.7 เซลล์ไตลิง (Vero cell) เซลล์ผิวหนังด้านนอก (Human Keratinocyte Cell Line, HaCaT cells) และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนัง (Normal Human Dermal Fibroblast, NHDF) และมีสารสำคัญคือ ยูจีนอล (eugenol) (100.17 ± 0.38 µg/mL) เควอซิทินทริกกูโคไซด์ (Quercetin-3-glucoside) (54.09 ± 0.94 µg/mL) และกรดควินิก (3,5-Di-O-caffeoylquinic acid) (28.61 ± 1.39 µg/mL) ในปริมาณสูง ซึ่งมีส่วนช่วยในการลด NO จากกระบวนการอักเสบ นอกจากนั้นการสกัดเอาสดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน) ซึ่งให้สารสำคัญคือ ยูจีนอล (eugenol) (10.84 ± 0.97 µg/mL) เควอซิทิน (Quercetin)

(0.39 ± 0.15 $\mu\text{g/mL}$) เควอซีทินทรี่กลูโคไซด์ (Quercetin-3-glucoside) (7.57 ± 0.40 $\mu\text{g/mL}$) เบต้า เดมาสีโนน (β -damascenone) (0.0448 ± 0.1029 $\mu\text{g/mL}$) และกรดควินิก (3,5-Di-O-caffeoylquinic acid) (9.41 ± 0.32 $\mu\text{g/mL}$) ซึ่งเบต้า เดมาสีโนนเป็นสารสำคัญในการแก้พิษแมงกะพรุน จึงได้นำสารสกัดจากสองวิธีการสกัดมาใช้ในการพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์โดยใช้ Tween60 เป็นสารลดแรงตึงผิว พบว่าสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสามารถพัฒนาให้เกิดต้นแบบผลิตภัณฑ์อิมัลชัน โดยมีค่าความเป็นกรดต่าง (pH) อยู่ที่ประมาณ 4.55 ± 0.06 ผลิตภัณฑ์ต้นแบบเป็นของเหลวสีน้ำตาล มีความขุ่นเนื่องจากการลดปริมาณเอทานอล ซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดี มีความมันและชั้นเล็กน้อย และมีกลิ่นหอมเล็กน้อย อนุภาคอิมัลชันมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ ผลการศึกษานี้สามารถนำผลิตภัณฑ์ต้นแบบไปพัฒนาต่อยอดในระดับอุตสาหกรรมต่อไปได้

คำสำคัญ: ต้นแบบนาโนอิมัลชันสเปรย์ ผักบุ้งทะเล พิษแมงกะพรุน วิธีการสกัด

Development of Pharmaceutical nanoemulsion spray from Damascenone oil in *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. leaf extract to promotes local wisdom in the treatment of allergic dermatitis and jellyfish poisoning

Nuttinee Teerakulkittipong¹, Suthabordee Muongmee¹, Salil Chanroj², and Marut Tangwattanachuleeporn³

¹Faculty of Pharmaceutical Sciences, Burapha University, Chonburi 20131

²Faculty of Sciences, Burapha University, Chonburi 20131

³Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University, Chonburi 20131

Abstract

The application of nanotechnological methods for bioavailability enhancement of herbal or delivering vital substances into the deeper skin. Nanotechnology reduces cytotoxicity, increases stability of substances and easy way to prepare formulations in both soluble and insoluble. The aim of this study was to develop Damascenone oil and other bioactive substances of *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. in the form of nano-emulsion. Value-added is the additional features, high stability and contributes to the development of new technology and innovation. Various extraction methods are important to obtain effective bioactive compounds with high yield extraction and were analyzed types and content of the major substances in *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. Choosing the best extraction methods to develop new prototypes for commercialization and test the physical and chemical characteristics. The results show spray dry of leaves was the highest yield and high bioactive compound. The concentration of 250 µg/ml was able to reduce the NO radical content in Raw264.7 cells well. No toxicity to Raw264.7 cells, Vero cells, Human Keratinocyte Cell Line (HaCaT cells), and Normal Human Dermal Fibroblast (NHDF) and active substance was eugenol (100.17 ± 0.38 µg/ml) quercetin-3-glucoside (54.09 ± 0.94 µg/ml) and 3,5-Di-O-caffeoylquinic acid (28.61 ± 1.39 µg/ml). In addition, R134a extraction of fresh aerial parts (oil phase) was active substance eugenol (10.84 ± 0.97 µg/ml),

quercetin ($0.39 \pm 0.15 \mu\text{g/ml}$), quercetin-3-glucoside ($7.57 \pm 0.40 \mu\text{g/ml}$), β -damascenone ($0.0448 \pm 0.1029 \mu\text{g/ml}$) and 3,5-Di-O-caffeoylquinic acid ($9.41 \pm 0.32 \mu\text{g/ml}$). The extracts of two extraction methods were used to develop the new prototype using Tween60 as a surfactant to create emulsion particles. Physical properties, pH of the product is approximately 4.55 ± 0.06 , color is a brown turbid liquid because ethanol content was reduced due to Thailand Food and Drug Administration criteria. The product is well absorbed through the skin, slightly oily and viscosity, and slight fragrance. The dispersed particles are spread evenly throughout the prototype. The results of this study can be further developed into the prototype into the industrial-based study.

Keyword: Pharmaceutical nanoemulsion spray, *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., Jellyfish poisoning, Extraction method

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 45.6/2563

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้การสนับสนุนการทำโครงการวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เจ้าหน้าที่ฝ่ายวิจัยคณะเภสัชศาสตร์ ที่ได้อำนวยความสะดวกให้กับคณะผู้วิจัย ตลอดจนผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านที่กรุณาให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัย รวมทั้งผู้เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้ความร่วมมือ และให้การสนับสนุนในการเก็บรวบรวมข้อมูลและในการทำวิจัยครั้งนี้เป็นอย่างดี

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฉ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....	1
ทบทวนวรรณกรรม.....	4
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	34
ขอบเขตการวิจัย.....	34

สารบัญ

	หน้า
กรอบแนวคิดการวิจัย.....	35
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	35
2 วิธีดำเนินการวิจัย.....	36
3 ผลการวิจัย.....	45
4 สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	87
รายงานสรุปการเงิน.....	90
เอกสารอ้างอิง.....	91
ประวัตินักวิจัยและคณะ.....	96

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ทบทวนวรรณกรรมวิธีการเตรียมนาโนอิมัลชันโดยวิธีการเกิดอิมัลชันได้เอง	31
2	การเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน	46
3	การเปรียบเทียบปริมาณ Total phenolic ของผักบุ้งทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน	48
4	การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของผักบุ้งทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน	50
5	การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของผักบุ้งทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน	53
6	การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ของผักบุ้งทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน	55
7	สารสำคัญยูจีนอลในผักบุ้งทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน	68
8	สารสำคัญเคอซิทินในผักบุ้งทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน	69
9	สารสำคัญเคอซิทินทริกัลโคไซด์ในผักบุ้งทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน	71
10	สารสำคัญเบต้า เดมาสทีโนนในผักบุ้งทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน	73
11	สารสำคัญกรดควินิกในผักบุ้งทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน	74
12	องค์ประกอบสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเล	77
13	ลักษณะทางกายภาพของตำรับนาโนอิมัลชัน	82
14	การประเมินสูตรตำรับนาโนอิมัลชันด้วยเครื่อง Zetasizer	86

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของนาโนอิมัลชัน (<100 nm)	2
2	โครงสร้างของยูจีนอล (eugenol)	9
3	โครงสร้างของ β -damascenone	9
4	โครงสร้างของ 3,5-Di-O-caffeoylquinic acid	12
5	โครงสร้างของ Quercetin	13
6	โครงสร้างของ Quercetin-3-glucoside	13
7	การแช่ (Maceration)	15
8	การสกัดด้วยเครื่องให้ความถี่สูง (Ultrasound assisted extraction)	15
9	การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave-Assisted Extraction)	16
10	การสกัดสารด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด (Sub-supercritical CO ₂ extraction)	17
11	การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูง (Pressurized hot water extraction)	18
12	การสกัดสารด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวดด้วยสารทำความเย็น (Sub-supercritical fluid extraction)	19
13	การอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer)	20
14	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay	21
15	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay	22

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
16	การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	23
17	Spontaneous emulsification method by initially applying high HLB surfactants in the oil phase before putting in to the aqueous phase	29
18	การยับยั้งไนตริกออกไซด์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย LPS (100 ng/mL) ในเซลล์ RAW 264.7 และได้รับการรักษาด้วยสารสกัดผักบุงทะเล	58
19	ความอยู่รอดของเซลล์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย LPS (100 ng/mL) ในเซลล์ RAW 264.7 และได้รับการรักษาด้วยสารสกัดผักบุงทะเล	60
20	ผลของสารสกัดผักบุงทะเลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ Vero ที่ถูกบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง	62
21	ผลของสารสกัดผักบุงทะเลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ HaCaT ที่ถูกบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง	64
22	ผลของสารสกัดผักบุงทะเลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ HaCaT ที่ถูกบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง	66
23	กราฟมาตรฐานของยูจีนอลที่ 215 nm	67
24	กราฟมาตรฐานของเคออสิทินที่ 254 nm	68
25	กราฟมาตรฐานของเคออสิทินทรีกลูโคไซด์ที่ 254 nm	70
26	กราฟมาตรฐานของเบต้า เดมาสซิโนนที่ 254 nm	72
27	กราฟมาตรฐานของกรดควินิกที่ 254 nm	73

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
28	สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 1	78
29	สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 2	79
30	สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 3	80
31	สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 4	80
32	สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 5	81
33	ขนาดอนุภาคอิมัลชันของสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 1	83
34	ขนาดอนุภาคอิมัลชันของสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 2	83
35	ขนาดอนุภาคอิมัลชันของสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 3	84
36	ขนาดอนุภาคอิมัลชันของสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 4	84
37	ขนาดอนุภาคอิมัลชันของสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 5	85

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในปัจจุบันกรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ คาดการณ์ว่าในปี 2563 ผลิตภัณฑ์สมุนไพรเสริมอาหารและการรักษาด้วยสมุนไพรในตลาดโลกมีมูลค่าเพิ่มสูงเท่ากับ 1.15 แสนล้านเหรียญสหรัฐ เนื่องจากผู้บริโภคมีแนวโน้มในการดูแลสุขภาพและความงามเพิ่มขึ้นต่อเนื่อง ส่งผลให้มีความต้องการผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติและสมุนไพรเพิ่มขึ้นอย่างมาก รวมถึงความนิยมในฐานะที่เป็นทางเลือกในการดูแลสุขภาพเกี่ยวกับการทดแทนฮอร์โมนและดูแลระบบประสาทที่มีต้นทุนในการรักษาถูกกว่า ค่อนข้างปลอดภัย เมื่อเทียบกับการรักษาโดยการแพทย์กระแสหลัก (หนังสือพิมพ์ฐานเศรษฐกิจออนไลน์, 2559) และจากกระแสนิยมรักสุขภาพและการใส่ใจความเป็นธรรมชาติ 100% ทั้งในอาหาร ยา และเครื่องสำอาง ส่งผลให้ผู้บริโภคในปัจจุบันหันหลังให้สิ่งที่ผลิตขึ้นจากห้องปฏิบัติการ โดยจากผลสำรวจของมินเทล พบว่า 50% ของเพศชายในสหราชอาณาจักรเชื่อว่าผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้าที่มีส่วนผสมและวัตถุดิบจากธรรมชาติให้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าเครื่องสำอางแบรนด์ใหญ่ที่ผลิตในห้องปฏิบัติการ และอีกกว่า 42% ของผู้บริโภคชาวสหราชอาณาจักรเชื่อว่าการซื้อและใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติหรือผลิตภัณฑ์ออร์แกนิกจะทำให้สุขภาพดีขึ้นและสภาพแวดล้อมของโลกดีขึ้นด้วย นำมาซึ่งความนิยมของเทรนด์ความงามที่เรียกเล่นๆ ว่า ‘kitchen-beauty’ ที่หยิบเอาวัตถุดิบต่างๆ ในครัวมาใช้สำหรับเสริมความงาม โดยนอกจากจะเป็นการตอกย้ำถึงกระแสรักสุขภาพแล้ว ยังสามารถเห็นถึงการมีส่วนร่วมหรือเป็นผู้กำหนดสูตรต่างๆ ของเครื่องสำอางได้เองอีกด้วย (Marketeer, 2017) จากข้อมูลของผู้บริโภคที่หันมาให้ความสนใจและนิยมใช้สารจากธรรมชาติในการดูแลสุขภาพและความงามมากขึ้น ได้มีการนำนาโนเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้กับวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพและความงาม โดยสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของสารสำคัญ ความคงตัว และการดูดซึมเข้าสู่ผิวหนัง จึงมีการใช้นาโนเทคโนโลยีกันอย่างแพร่หลาย นาโนอิมัลชันเป็นระบบที่ประกอบด้วยน้ำมัน น้ำและสารลดแรงตึงผิวในปริมาณสูง มีลักษณะเป็นของเหลวใสที่มีความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์สูง ขนาดของหยดอนุภาคในตำรับมักมีขนาดเล็กกว่า 100 นาโนเมตร สามารถคงรูปอยู่ได้จากผิวฟิล์มของสารลดแรงตึงผิว รูปตัวอย่างแสดง ดังภาพที่ 1 สารลดแรงตึงผิวที่นิยมใช้คือ กลุ่มสารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ (nonionic surfactants) และกลุ่มสารลดแรงตึงผิวที่มีทั้งประจุบวกและลบ (zwitterionic surfactants) ตัวยาหรือสารสำคัญที่มีคุณสมบัติชอบน้ำหรือไม่ชอบน้ำสามารถนำส่งด้วยระบบนี้ได้ สารลดแรงตึงผิวในตำรับสามารถทำปฏิกิริยากับไขมันที่อยู่ระหว่างเซลล์ของผิวหนังทำให้สามารถเพิ่มการซึมผ่านของตัวยาหรือสารสำคัญผ่านผิวหนัง และในส่วนของวิทยาศาสตร์ไขมัน

สามารถทำให้เกิดการปกคลุมผิวเมื่อทาลงบนผิวหนังโดยทำให้ผิวหนังมีความชุ่มชื้นสูงขึ้น ส่วนหยดอนุภาคอิมัลชันจะยุบตัวหรือหลอมไปกับส่วนประกอบของผิวหนัง (ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2556)



ภาพที่ 1 ลักษณะของนาโนอิมัลชัน (<100 nm) (ดัดแปลงมาจาก Venugaranti VV, et al.)

การเพิ่มประสิทธิภาพของสมุนไพรด้วยนาโนเทคโนโลยีในรูปของอนุภาคนาโนและระบบนำส่งทางผิวหนังที่จะช่วยในเรื่องต่างๆ เช่น เพิ่มประสิทธิภาพของการนำส่งสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนังได้ลึกขึ้น ช่วยลดความเป็นพิษต่อเซลล์ ช่วยเพิ่มความคงตัวของสารสำคัญ และง่ายต่อการเตรียมสูตรตำรับทั้งในส่วนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ นาโนเทคโนโลยีที่ประยุกต์ใช้นำส่งทางผิวหนัง เช่น เทคโนโลยีการกักเก็บ (Encapsulation technique) ไลโปโซม, นิโอโซม, อนุภาคนาโนไขมันแข็ง, นาโนอิมัลชัน และอนุภาคนาโนพาทิเคิล เป็นต้น โดยมีข้อดี เช่น สามารถหลีกเลี่ยงการถูกทำลายที่ทางเดินอาหารและที่ตับได้, สามารถควบคุมการปลดปล่อยยาได้ เช่น ออกแบบระบบนำส่งให้สามารถออกฤทธิ์ได้นานขึ้น, สามารถบริหารยาด้วยตัวเองได้และเมื่อต้องการหยุดยาสามารถทำได้ง่าย, ลดการเกิดผลข้างเคียงจากการใช้ยา และทดแทนการให้ยาในรูปแบบรับประทานและรูปแบบฉีดได้ดี โดยมีนำเสนอโครงการพัฒนาระบบนำส่งเซริซิงโปรตีนจากไหมไทย, การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลยุงจากน้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติและการพัฒนาการกักเก็บสารสกัดและน้ำมันหอมระเหยเพื่อบรรเทาอาการอักเสบและปวดเมื่อยกล้ามเนื้อด้วยนาโนเทคโนโลยี

ในประเทศไทยพบว่ามียางงานการแพร่ระบาดของแมงกะพรุนมีพิษได้เริ่มปรากฏให้เห็นอย่างต่อเนื่องและเพิ่มจำนวนของการระบาดมากขึ้น (ผู้จัดการออนไลน์, 2554) สังเกตได้จากการพบป้ายเตือนประกาศเวลาไปเล่นน้ำทะเลแล้วให้ระวังแมงกะพรุน โดยเฉพาะการไปเล่นน้ำทะเลในบางที่ บางฤดูกาล ในช่วงระหว่างเดือนพฤศจิกายน ถึง เดือนพฤษภาคม ของทุกปี และยังสามารถพบได้ตลอดปีในแถบทะเลบริเวณภูมิประเทศเขตร้อน สำหรับประเทศไทยสามารถพบแมงกะพรุนได้ทั่วไป ทั้งฝั่งอ่าวไทยและอันดามัน แต่พบในฝั่งอ่าวไทยมากกว่า ส่วนใหญ่อยู่ตามชายฝั่งและเกาะใกล้ฝั่ง ในเขตน่านน้ำบริเวณที่คนเล่นน้ำ

ได้ (สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ, 2559) โดยกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุขเปิดเผยว่า ในช่วงฤดูฝนมักจะพบแมงกะพรุนถูกคลื่นซัดเข้ามาชายหาดจำนวนมาก ซึ่งแมงกะพรุนที่เป็นอันตรายและมีพิษรุนแรงคือ แมงกะพรุนกล่อง จากข้อมูลสำนักระบาดวิทยา ตั้งแต่ปี 2542-2558 พบผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลเนื่องจากแมงกะพรุนพิษมีมากกว่า 1,000 ราย มีอาการหนักจนถึงหมดสติ 18 ราย ในจำนวนนี้เสียชีวิต 8 ราย จากภูมิปัญญาท้องถิ่นในการรักษาพิษจากแมงกะพรุน นิยมใช้ผักบุ้งทะเลเป็นสมุนไพรแก้อักเสบและต้านพิษจากแมงกะพรุน รวมทั้งโรคผิวหนังอักเสบ (dermatitis) อีกด้วย และจากหลักฐานทางวิทยาศาสตร์พบว่า กลไกที่ลดการอักเสบ เกิดจากการลดการสร้าง prostaglandin และ leukotriene โดยน้ำที่คั้นได้จากใบสดสามารถใช้รักษาแผลที่เกิดจากพิษแมงกะพรุนไฟได้ (จันทร์วรรณแสง และคณะ, 2557) นอกจากนี้ ได้มีการวิจัยทดสอบฤทธิ์ต่อต้านฮีสตามีน (สารที่ทำให้เกิดอาการแพ้) ด้วยการใช้สารสกัดจากใบผักบุ้งทะเล นำไปทดลองกับลำไส้ที่ถูกกระตุ้นด้วยฮีสตามีนและพิษจากแมงกะพรุน พบว่าสามารถช่วยต้านฤทธิ์ทั้งสองได้ และเมื่อได้มีการทำครีมขึ้นโดยใช้สารสกัดจากใบผักบุ้งทะเลด้วยอีเทอร์ 1% ก็สามารถช่วยรักษาพิษของแมงกะพรุนได้ โดยสารที่มีฤทธิ์ต้านพิษแมงกะพรุนได้คือสาร Damascenone (สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2560) ซึ่งสารดังกล่าวเกิดจากการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ (carotenoids) (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. Damascenone, 2560) ผักบุ้งทะเลมีรายงานพบสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่สำคัญได้แก่ naphthalenone, (-)- mullein, eugenol, 4-vinyl- quaiacol, lipophilic glycosides, 2-methylpropionic, (2S)-methylbutyric, n-hexanoic, n-decanoic acid (Manigaunha A et al.,2010) ในใบ พบ Fumaric acid, Succinic acid, Citric acid, Maleic acid, Curcumene, Ergotamine ลำต้นเหนือดิน พบ Behenic acid, Benzoic acid, Butyric acid, Essential Oil, Potassium Chloride, Myristic acid, Sodium chloride, β -Sitosterol ที่ง้วน พบ Citric acid, Fumaric acid, Hyperoside, Malic acid, Isoquercitrin, Succinic acid, Tartaric acid และ เมล็ด พบ Dehydrocyclohexane, Cacalol methyl ether, Ergotamine, Matorin, Matorin acetate ผักบุ้งทะเลเป็นพืชที่ถูกนำมาใช้เพื่อการรักษาพิษของแมงกะพรุนมานาน เนื่องจากมีฤทธิ์ลดการอักเสบได้ ภายในผักบุ้งทะเลมีสารสำคัญในการออกฤทธิ์ลดการอักเสบคือ Beta-Damascenone และ E-Phytol ซึ่งมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดทำให้การอักเสบลดลง และยังพบว่ามีสารออกฤทธิ์ลดการอักเสบ ได้แก่ 2-hydroxy-4,4,7-trimethyl-1-(4H)-naphthalenone, (-)-mellein, eugenol, 4-vinyl guaiacol, actinidols Ia และ Ib โดยออกฤทธิ์ต้านพรอสตาแกลนดิน

จากประโยชน์ของผักบุ้งทะเล จึงได้มีนักวิจัยนำผักบุ้งทะเลมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ 2 ชนิด ได้แก่ ยาหม่อง IPA (ผักบุ้งทะเล) เพื่อทาบรรเทาอาการอักเสบ ปวด บวมจากแมลงสัตว์กัดต่อย ต้านฤทธิ์ฮีส

ตามีนและพิษแมงกะพรุน พิษแมลง พิษสัตว์ทะเล ลดอาการผดผื่นคัน และครีมจากผักบุงทะเลเพื่อรักษาพิษจากแมงกะพรุน และพบว่าสามารถรักษาอาการได้ทุกระยะ ยานี้ไม่มีปฏิกิริยาการแพ้ในคนที่ทดลองและไม่ใช้สารก่อระคาย ทาครีมบริเวณที่ถูกแมงกะพรุน โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ (1) กลุ่มที่ถูกแมงกะพรุนในวันแรกและทายาทันทีและมีเพียงตุ่มแดง 5 คน ปรากฏว่า อาการแดงคัน หายไปภายใน 2 วัน (2) พวกที่ถูกแมงกะพรุนมานาน 3-30 วัน และเกิดผื่นแดง รอยไหมหรือแผลแล้ว 7 คน ปรากฏว่า แผลหายร้อยละ 50 ภายใน 1 สัปดาห์และหายสนิทภายในหนึ่งถึงหนึ่งเดือนครึ่ง โดยที่มีแผลเป็นเนื้อนูนน้อยมาก จากผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดนี้พบว่าต้องมีการเตรียมผลิตภัณฑ์ใหม่ในการใช้ทุกครั้ง เนื่องจากสารสกัดมีความคงตัวในครีมเบสและซีฟิ่งเบสต่ำ ไม่สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้นาน แม้จะมีประสิทธิภาพในการรักษาพิษของแมงกะพรุนได้ดี นอกจากนี้การใช้สารสกัดซึ่งมีสารหลายชนิดรวมกันหลายประเภทเป็นสาเหตุสำคัญในการลดความคงตัวของผลิตภัณฑ์ ข้อจำกัดที่ผู้บริโภคนิยมใช้ในการรักษาพิษจากแมงกะพรุนทำน้ัน และรูปแบบเภสัชภัณฑ์ที่เหมาะสมมีความสำคัญไม่ยิ่งหย่อนไปกว่ากันในการทำให้สารสำคัญ ออกฤทธิ์ได้ดีและมีความคงตัวสูง ดังจะเห็นได้ว่าการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสารสกัดผักบุงทะเลแล้วแต่ไม่สามารถนำมาต่อยอดในเชิงพาณิชย์และต่อสังคมในการแก้ไขปัญหาให้กับผู้ป่วยได้อย่างทันทั่วทั้ง ดังนั้นในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงสนใจนำน้ำมัน Damascenone ที่เป็นสารออกฤทธิ์สำคัญที่สกัดจากใบผักบุงทะเล มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบนาโนอิมัลชันซึ่งทำให้สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ได้ดีขึ้น ดูดซึมได้ดี มีความคงตัวสูงเพื่อเพิ่มมูลค่าและการนำไปสู่การพัฒนาเทคโนโลยีและนวัตกรรมใหม่ ขยายกลุ่มผู้บริโภคจากการใช้เพื่อแก้พิษแมงกะพรุนเพียงอย่างเดียว ให้สามารถนำไปใช้ในการรักษาโรคผื่นแพ้ลมพิษอื่นๆได้อีกด้วย อีกทั้งสามารถนำไปเป็นเป็นสินค้าส่งออกเพื่อส่งเสริมเศรษฐกิจการค้าของประเทศไทยได้ จึงนับเป็นภารกิจที่สำคัญของมหาวิทยาลัยบูรพาซึ่งเป็นมหาวิทยาลัยในภาคตะวันออกของประเทศไทย ที่มีวิสัยทัศน์ในการเป็นผู้นำด้านศาสตร์ทางทะเลของประชาคมอาเซียน เนื่องจากมีพื้นที่ติดทะเลและมีทรัพยากรธรรมชาติทางทะเลอยู่มากมาย ทั้งที่อยู่ในทะเลและบริเวณชายฝั่ง

บททวนวรรณกรรม

ประเทศไทยจัดว่าเป็นประเทศที่มีชื่อเสียงในเรื่องของธรรมชาติที่สวยงาม และมีสภาพภูมิอากาศที่อบอุ่น มีความปลอดภัยและความสะดวกสบายในการพักผ่อนและเดินทาง รวมทั้งมีผู้คนท้องถิ่นซึ่งมีอัธยาศัยไมตรีที่เต็มไปดด้วยรอยยิ้มและเป็นมิตร จึงทำให้ประเทศไทยกลายเป็นจุดหมายปลายทางที่เป็นที่นิยมของนักท่องเที่ยวชาวต่างชาติมาโดยตลอด ล่าสุดในปี พ.ศ.2552 โลกนี่ แพลนเน็ต (Lonely Planet) สำนักพิมพ์หนังสือท่องเที่ยวที่มีชื่อเสียงระดับโลก ได้จัดอันดับ 2 แหล่งท่องเที่ยวคุ้มค่าทั่วโลก โดยพิมพ์ในหนังสือ “ที่สุดของการท่องเที่ยวปี 2553” ระบุแนวโน้ม การท่องเที่ยว แหล่งท่องเที่ยว การเดินทาง และ

ประสบการณ์น่าสัมผัสที่เป็นที่นิยมที่สุดในโลก ซึ่งประเทศไทยได้ตำแหน่งแหล่งท่องเที่ยวคัมภีร์อันดับสอง รองจากไอซ์แลนด์ โดยระบุว่าประเทศไทย มีความคุ้มค่าตลอดกาล ถือเป็นหนึ่งในแหล่งพักผ่อนระยะยาว ที่มีราคาถูกที่สุดในโลกสำหรับนักท่องเที่ยวชาวยุโรป โดยมีที่พักอาศัยให้เลือกมากมาย (“โลนลี่แพลนเน็ต จัดท่องเที่ยวไทยคัมภีร์ อันดับสอง.” 3 พฤศจิกายน 2552: 5) (พิชัย นิรมานสกุล, 2554) แต่เมื่อเริ่มเข้าสู่ ฤดูฝน ชาวการแพร์ระบาดของแมงกะพรุนมีพิษได้เริ่มปรากฏให้เห็นอย่างต่อเนื่อง (ผู้จัดการออนไลน์, 2554) สังเกตได้จากการพบป้ายเตือนประกาศเวลาไปเล่นน้ำทะเลว่าให้ระวังแมงกะพรุน โดยเฉพาะการ ไปเล่นน้ำทะเลในบางที่ บางฤดูกาล ในช่วงระหว่างเดือนพฤศจิกายน ถึง เดือนพฤษภาคม ของทุกปี และยังสามารถพบได้ตลอดปีในแถบทะเลบริเวณภูมิภาคเขตร้อน สำหรับประเทศไทยสามารถพบ แมงกะพรุนได้ทั่วไป ทั้งฝั่งอ่าวไทยและอันดามัน แต่พบในฝั่งอ่าวไทยมากกว่า ส่วนใหญ่อยู่ตามชายฝั่งและ เกาะใกล้ฝั่ง ในเขตน่านน้ำบริเวณที่คนเล่นน้ำได้ (สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ, 2559) โดย กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุขเปิดเผยว่า ในช่วงฤดูฝนมักจะพบแมงกะพรุนถูกคลื่นซัดเข้ามา ชายหาดจำนวนมาก ซึ่งแมงกะพรุนที่เป็นอันตรายและมีพิษรุนแรงคือ แมงกะพรุนกล่อง จากข้อมูลสำนัก ระบาดวิทยา ตั้งแต่ปี 2542-2558 พบผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลเนื่องจากแมงกะพรุนพิษมี มากกว่า 1,000 ราย มีอาการหนักจนถึงหมดสติ 18 ราย ในจำนวนนี้เสียชีวิต 8 ราย ซึ่งทุกรายเกิดจาก แมงกะพรุนกล่อง นอกจากนี้ยังพบเหตุการณ์นักท่องเที่ยวที่มาเล่นน้ำทะเลบางแสนถูกพิษแมงกะพรุนจน ได้รับบาดเจ็บ ซึ่งสาเหตุที่ทำให้แมงกะพรุนมีเยอะขึ้น เกิดขึ้นจาก 3 สาเหตุคือ เกิดจากน้ำเสียและน้ำจาก ภาคการเกษตรที่มีปุ๋ยเคมีมาก มีธาตุอาหารสูง แพลงก์ตอนบลูม (น้ำเปลี่ยนสี ซึ่ปลาวาฬ เกิดประจำ) ลูก แมงกะพรุนมีอาหารมาก เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว เกิดจากเต่าทะเลที่กินแมงกะพรุนเป็นอาหาร ลดน้อยลง มากจากปัญหาขยะทะเล การประมง และพื้นที่วางไข่ และเกิดจากภาวะโลกร้อนทำให้กระบวนการใน ทะเลเปลี่ยนแปลง หลายประเทศรายงานว่าแมงกะพรุนกล่องเพิ่มมากขึ้น (Thai PBS ออนไลน์, 2558) โดยวิธีการป้องกันหากโดนพิษแมงกะพรุนสัมผัสที่ผิวให้รีบใช้น้ำทะเลหรือน้ำส้มสายชูล้างบริเวณบาดแผล อย่างเร่งด่วน เพื่อให้พิษแมงกะพรุนที่ติดอยู่บนผิวหลุดไปให้หมด และหากมีผักบุ้งทะเลอยู่ใกล้ๆ ให้ขยำ ผักบุ้งทะเลแล้วประคบที่แผลเพื่อลดความรุนแรงของพิษแมงกะพรุน จากนั้นให้รีบนำตัวผู้ป่วยส่ง โรงพยาบาลโดยเร็วที่สุด ทั้งนี้การปฐมพยาบาลแผลโดนพิษแมงกะพรุนนั้นห้ามล้างแผลด้วยน้ำจืด แอลกอฮอล์ ประคบน้ำแข็ง เพราะจะยิ่งทำให้ถุงพิษที่อยู่บนผิวแตกและสารพิษแมงกะพรุนจะสัมผัสผิว มากขึ้นบาดแผลก็จะยิ่งทวีความรุนแรง รวมทั้งอย่าขยี้ผักบุ้งทะเลบนแผลด้วย เพราะพิษแมงกะพรุนอาจ กระจายตัวบนผิวหนังได้เร็วขึ้น (สำนักระบาดวิทยา/สำนักสื่อสารความเสี่ยงฯ กรมควบคุมโรค กระทรวง สาธารณสุข, 2560)

แมงกะพรุนโดยทั่วไปมีประมาณ 250 ชนิด แต่ละชนิดจะมีขนาดและรูปร่างแตกต่างกันมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณตั้งแต่ 2-200 ซม. พวกที่มีขนาดเล็กมักจะมีสีสดและเข็ม เช่น สีชมพู ม่วง เขียว หรือใสไม่มีสี ส่วนพวกที่มีขนาดใหญ่มักจะมีสีฟ้า น้ำตาล หรือขาวขุ่น บางชนิดสามารถเรืองแสงได้ในที่มืด แมงกะพรุนแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. แมงกะพรุนที่ใช้บริโภค จากการสำรวจของ พงณา บุญยเนตร (2521, 2522) รายงานว่า แมงกะพรุนที่ถูกนำมาใช้บริโภคในอ่าวไทยมีอยู่ 3 ชนิด (group jellyfish, 2559) คือ

1.1 แมงกะพรุนลอดช่อง (LOBONEMASMITHII) ลำตัวใส สีฟ้า ขาว ชมพู หรือ ม่วงคราม ผิววนอกของร่มมีรยางค์คล้ายวุ้น เป็นเส้นตรงเหมือนเส้นลอดช่องสิงคโปร์ รยางค์ที่อยู่ตรงกลางใต้ร่มมีขนาดใหญ่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางร่ม ที่พบว่านำมาใช้ทำแมงกะพรุนแห้งอยู่ระหว่าง 20 - 50 เซนติเมตร

1.2 แมงกะพรุนหนัง (RHOPILOMAHISPIDUM) หรือแมงกะพรุนส้มโอ ลำตัวสีขาว หรืออาจมีจุดประสีน้ำตาล ผิวหยาบขรุขระค่อนข้างแข็งคล้ายเปลือกส้มโอ

1.3 แมงกะพรุนหอม (MASTIGIAS SP.) ลำตัวสีน้ำตาลไหม้ ผิววนอกของร่มเป็นปุ่มนูนยาวคล้ายผิวมะกรูด

2. แมงกะพรุนมีพิษ ที่พบบ่อยในประเทศไทย (ธรรมชาติ บัญญัติวิสุทธิ) ได้แก่

2.1 แมงกะพรุนสาหร่าย สาโหร่ง (Sea wasp, Chironex species) หรือแมงกะพรุนสีขาวเหลืองแกมแดง พบเจอแถบทะเลชุมพรและหัวหิน ลักษณะมีสายยาวต่อจากลำตัวหลายเส้น แต่ละเส้นยาวประมาณ 1.5 เมตร บางครั้งสายของมันจะขาดจากลำตัวลอยไปตามน้ำทำอันตรายต่อผู้ที่สัมผัสได้ ทำให้ไหม้เกรียม ปวดแสบตามกล้ามเนื้อ ในรายที่แพ้รุนแรงอาจมีไข้และจุกแน่นหน้าอก มีอาการ 2-3 วันจึงทุเลาลงได้

2.2 แมงกะพรุนไฟ (Sea nettle, Chrysaora species) มีสีแดงหรือสีเขียวน้ำ ที่ลำตัวมีจุดสีขาวทั่วไป เมื่อถูกตัวจะเกิดแผลพุพองแตกเป็นน้ำเหลือง เกิดเป็นรอยดำได้นานหลายปี

2.3 แมงกะพรุนกล่อง (Box jellyfish) เป็นแมงกะพรุนที่สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยตัวเองไม่เหมือนแมงกะพรุนทั่วไปที่ลอยไปตามกระแสน้ำ มีรูปร่างคล้ายระฆังหรือกล่องสี่เหลี่ยม ตัวมักเป็นสีน้ำเงินจางหรือไม่มีสี แต่ละตัวจะมีหนวดประมาณ 15 เส้น แต่ละเส้นอาจมีความยาวถึง 3 เมตร และหนวดแต่ละเส้นมีเข็มพิษถึงห้าแสนอัน มีการประมาณการกันว่าแมงกะพรุนกล่อง 1 ตัวมีพิษที่สามารถฆ่าคนได้ถึง 60 คน ซึ่งพิษของแมงกะพรุนกล่องสามารถทำงานอย่างรวดเร็ว และฆ่าเหยื่อได้ภายในไม่กี่นาที โดยพิษของมันจะไปทำลายระบบการทำงานของหัวใจ ระบบประสาท และเซลล์ผิวหนัง (สายจิต ดาวสุโข, 2558) โดยเฉพาะสายพันธุ์ *Chironex fleckeri* ซึ่งเป็นแมงกะพรุนกล่องชนิดที่มีขนาดใหญ่ที่สุด มีเซลล์เข็มพิษมากถึง 4-5 พันล้านเซลล์ในหนวดทั้งหมด 60 เส้น เมื่อผู้ป่วยถูกต่อยจะเกิดอาการปวดแสบปวดร้อนอย่าง

รุนแรง ก่อให้เกิดภาวะโปแตสเซียมสูง (Hyperkalemia) ซึ่งนำไปสู่ภาวะที่เกิดการล้มเหลวของระบบไหลเวียนโลหิต (Cardiovascular collapse) หมดสติก่อนที่จะกลับเข้าถึงฝั่งและเสียชีวิตอย่างรวดเร็ว

โดยส่วนใหญ่แมงกะพรุนจะสร้างสารพิษกลุ่ม Cellular membrane pore-forming toxins และ neurotoxic peptides ซึ่งมีพิษร้ายแรงโดยเฉพาะเมื่อพิษซึมเข้าสู่กระแสโลหิตจะมีผลต่อระบบประสาทและหัวใจ จนอาจก่อให้เกิดสภาวะหัวใจล้มเหลวและเสียชีวิตอย่างรวดเร็ว (ศูนย์พิษวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข, 2558)

ในการปฐมพยาบาลเบื้องต้น ถ้าโดนพิษแมงกะพรุนต้องรีบล้างพิษตรงผิวหนังบริเวณที่โดนพิษด้วยน้ำทะเล โดยสาดน้ำทะเลใส่บริเวณที่โดนโดยแรงตักสาดไปเรื่อยๆ เพื่อกำจัดเข็มพิษให้มากที่สุด หรือเอาน้ำส้มสายชูมาล้างอย่างน้อย 30 วินาทีเพราะน้ำส้มสายชูจะทำลายพิษของแมงกะพรุนก่อนที่พิษจะเข้าซึมเข้าไปสู่กระแสโลหิตบริเวณผิวหนังที่โดนพิษ ห้ามใช้น้ำดองหรือใช้วัตถุใดๆ ขูดออกเด็ดขาด เพราะจะเป็นการเร่งให้เข็มพิษแทงเข้าไปในเนื้อแล้วปล่อยพิษเข้าสู่กระแสโลหิตมากขึ้น วิธีการหยุดยั้งไม่ให้พิษซึมเข้าในร่างกายได้ต้องใช้น้ำส้มสายชูซึ่งมีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนๆ (3-5%) ราดไปที่แผล ห้ามใช้น้ำร้อนประคบเพราะจะทำให้เส้นเลือดขยายตัวกระจายพิษง่ายขึ้น และหลีกเลี่ยงการใช้น้ำจืดเพราะจะไปกระตุ้นพิษให้กระจายมากขึ้น มีการแนะนำให้ใช้ผักบุ้งทะเลซึ่งชอบขึ้นอยู่แถวชายหาดที่มีแมงกะพรุน ชี้กับน้ำส้มสายชู ความเข้มข้น 5% ประคบผิวหนังบริเวณที่โดนพิษแล้วห่อด้วยผ้าขาวบางทิ้งไว้ 30-60 นาที แต่ถ้าหัวใจหยุดเต้นต้องรีบปั๊มหัวใจ ผายปอดแล้วรีบนำส่งโรงพยาบาลโดยเร็วที่สุด

ผักบุ้งทะเล หรือ ละมูเลาะห์ beach morning-glory, goat's foot creeper เป็นไม้ล้มลุก เลื้อยตามผิวดิน มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Ipomoea pes-caprae* (L.) R.Br. อยู่ในวงศ์ CONVOLVULACEAE ชื่อพ้อง *Ipomoea biloba* Forssk. subsp. *pescaprae*, *Convolvulus pes-caprae* L. มักพบในพื้นที่ใกล้ทะเล ทั้งต้นมียางขาว ใบเดี่ยวออกเรียงสลับกัน กว้าง 7-11 เซนติเมตร ยาว 5-8 เซนติเมตร แผ่นใบค่อนข้างหนา โคนใบรูปหัวใจ ปลายเว้าลึก ดอกออกเป็นช่อ ตามซอกใบ ช่อละ 4-6 ดอก กลีบดอกสีม่วงชมพู โคนเชื่อมติดกันเป็นถ้วย ปลายบานออกคล้ายปากแตร ผลเป็นผลแห้ง แตกได้ รูปกลมหรือรูปไข่ (สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2560) โดยมีส่วนที่ใช้เป็นยาและสรรพคุณได้ คือ

ใบสด	เป็นยาพอก ต้มอาบรักษาโรคผิวหนัง แก้ปวดไขข้อบวมอักเสบมีหนอง
รากสด	ขับปัสสาวะในโรคกระเพาะปัสสาวะอักเสบ แก้โรคเท้าช้าง ปวดฟัน
ผดผื่นคันมี	
	น้ำเหลือง ทั้งต้นแก้อาการอักเสบจากพิษแมงกะพรุนไฟ ถอนพิษลมพิษ ลมพัด ต้มอาบแก้โรคคันตามผิวหนัง

เมล็ด	ป้องกันโรคตะคริว โดยพบสารออกฤทธิ์ naphthalenone, (-)-mullein, eugenol, 4-vinyl-quaiacol, lipophilic glycosides, 2-methylpropionic, (2S)-methylbutyric, n-hexanoic, n-decanoic acid (Manigaunha A <i>et al.</i> ,2010)
ใบ	พบ Fumaric acid, Succinic acid, Citric acid, Maleic acid, Curcumene,
	Ergotamine
ลำต้นเหนือดิน	พบ Behenic acid, Benzoic acid, Butyric acid, Essential Oil, Potassium Chloride, Myristic acid, Sodium chloride, β -Sitosterol
ทั้งต้น	พบ Citric acid, Fumaric acid, Hyperoside, Malic acid, Isoquercitrin, Succinic acid, Tartaric acid
เมล็ด	พบ Dehydrocacalohastine, Cacalol methyl ether, Ergotamine, Matorin, Matorin acetate (สุนันทา โอศิริ และคณะ, 2556)

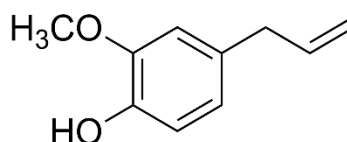
ทั้งยังมีการศึกษาพบว่ามีสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ ได้แก่ Beta-damascenone และ E-ehytol มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัวเป็นผลให้การอักเสบลดลง สารออกฤทธิ์ลดการอักเสบอื่น ได้แก่ 2-hydroxy-4,4,7-trimethyl-1-(4H)-naphthalenone, (-)-mellein, eugenol, 4-vinyl guaiacol, actinidols Ia และ Ib ซึ่งออกฤทธิ์ต้านพรอสตาแกลนดิน

ยูจีนอล (eugenol) เป็นชื่อเรียกทั่วไปของ สารเคมี มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{10}H_{12}O_2$ เป็นสารประกอบฟีนอลิก (*phenolic compounds*) มีชื่อทางเคมีคือ 2-methoxy-4-(2-propen-1-yl) phenol

ยูจีนอลเป็นน้ำมันหอมระเหยที่พบได้ทั่วไปในพืชสมุนไพรและเครื่องเทศหลายชนิด เป็นน้ำมันหอมระเหยที่จัดอยู่ในกลุ่มสารอะโรมาติก ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อันเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคต่างๆ มากมาย เช่น โรคกระเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคแก๊งก่อนวัย โรคความจำเสื่อม เป็นต้น อีกทั้งมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านจุลชีพชนิดต่างๆ เช่น เชื้อราและแบคทีเรีย ในปัจจุบันยูจีนอลสามารถนำมาใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ ได้หลายด้าน เช่น ด้านอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง สารทั้งสองชนิดถูกนำไปใช้เป็นส่วนแต่งกลิ่นในเครื่องสำอาง อาหาร และเครื่องดื่ม ด้านการเกษตรมักถูกนำไปใช้เป็นยาฆ่าเชื้อราในพืช และเป็นยาสลบในสัตว์น้ำ ในขั้นตอนการขนส่งสัตว์น้ำ ด้านการแพทย์ ยูจีนอลถูกนำไปใช้

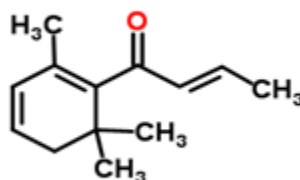
ในทางทันตกรรม และใช้เป็นยาแก้ปวดฟัน นอกจากนี้ยังพบว่าสารทั้งสองชนิดเป็นส่วนผสมในตัวยาหลายชนิดในรูปของพืชสมุนไพรเช่น ยาแก้ ท้องอืด ท้องเฟ้อ ยาแก้ไอ ยาละลายเสมหะ เป็นต้น

ยูจีนอลหรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า 4-allyl-2-methoxyphenol เป็นน้ำมันหอมระเหยในกลุ่มของสารประกอบอะโรมาติกซึ่งมีสูตรโมเลกุล คือ $C_{10}H_{12}O_2$ น้ำหนักโมเลกุล เท่ากับ 164.20 กรัม/โมล จุดเดือด 254 องศาเซลเซียส จุดหลอมเหลว -7.5 องศาเซลเซียส มีค่า pKa เท่ากับ 10.19 ที่ 25 องศาเซลเซียส โครงสร้างทางเคมีแสดงดังภาพที่ 2 และมีลักษณะทางกายภาพ คือ มีลักษณะเป็น ของเหลวไม่มีสีจนถึงสีเหลือง สามารถละลายน้ำได้เล็กน้อย ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ และมีกลิ่นคล้ายกานพลู



ภาพที่ 2 โครงสร้างของยูจีนอล (eugenol)

เบต้า เดมาซีนอน (β -damascenone) เป็นกลุ่มโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (ภาพที่ 3) เป็นสารเคมีสำคัญที่ถูกใช้ในน้ำหอม เป็นสารประกอบที่มีรสหวานและมีกลิ่นคล้ายน้ำผึ้ง



ภาพที่ 3 โครงสร้างของ β -damascenone

- ฤทธิ์ต้านฮีสตามีน ส่วนสกัดที่เป็นไขมันที่ไม่สามารถทำปฏิกิริยาเกิดเป็นสบู่ได้ (unsaponifiable fraction) และสารที่มีผลึกรูปเข็มสีขาวซึ่งได้จากสารสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์จากใบและน้ำคั้นจากใบสด มีฤทธิ์ต้านฮีสตามีนเมื่อทดสอบกับผิวหนังก แต่ส่วนสกัดอื่น ๆ และส่วนสกัดที่เป็นเมือกจากสารสกัดด้วยน้ำไม่พบว่ามีฤทธิ์ต้านฮีสตามีน ครีมที่มีสารสกัดจากใบผักบุ้งทะเลในความเข้มข้นร้อยละ 1 จะมีฤทธิ์ถอนพิษแมงกะพรุน ซึ่งสารที่มีฤทธิ์ต้านพิษแมงกะพรุนได้คือสาร Damascenone (เมดไทย, 2560) และพบว่าเมื่อใช้ครีมทาทันทีในวันแรกที่โดนแมงกะพรุนพิษ ตุ่มแดงและอาการคันจะ

ลดลงและหายไปภายใน 2 วัน ถ้าใช้ยาในรายที่มีพิษเป็นแผลเรื้อรัง พบว่าแผลจะหายไปร้อยละ 50 ภายใน 1 สัปดาห์ และหายสนิทภายใน 1-1.5 เดือน

- ฤทธิ์ลดการอักเสบ สารสกัดด้วยอีเทอร์และเอทานอลจากใบ มีฤทธิ์ลดการอักเสบ โดยออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างพรอสตาแกลนดิน

- ฤทธิ์แก้ปวด เมื่อฉีดสารสกัดด้วยเอทิลอะซีเตทและน้ำจากส่วนเหนือดินเข้าช่องท้องหนูเม้าส์จะลดอาการปวดที่ถูกกระตุ้นโดยกรดอะซิติคและฟอร์มอลินได้ การให้หนูกินสารสกัดด้วยเมทานอลจะลดอาการปวดได้ใกล้เคียงกับแอสไพรินหรือพาราเซตามอล สารสกัดด้วยเมทานอลและสารสกัดด้วยน้ำไม่ว่าจะให้โดยการฉีดเข้าช่องท้องหรือให้กินจะลดอาการปวดในหนูเม้าส์ได้เช่นเดียวกับการฉีดสารสกัดด้วยเอทานอลจากส่วนเหนือดินเข้าช่องท้องของหนูเม้าส์

- ฤทธิ์แก้ผิวหนังอักเสบจากพิษแมงกะพรุน การศึกษาทางคลินิกในผู้ป่วยผิวหนังอักเสบจากพิษแมงกะพรุน จำนวน 12 คน ได้รับการรักษาโดยทาครีมสารสกัดอีเทอร์จากใบเข้มข้น 1% (IPA 1%) ผู้ป่วย 5 คน ถูกแมงกะพรุนในวันแรก มีตุ่มแดงและคัน ทายา IPA ทันที ในวันแรกของการรักษาอาการคันลดลงและอาการจะหายในวันที่ 2 ของการรักษา ผู้ป่วยอีก 7 คน ถูกแมงกะพรุนมานาน 3-30 วัน มีผื่นแดงรอยไหม้หรือแผล หลังจากทายา IPA ผู้ป่วย 50% อาการจะดีขึ้นภายใน 7 วัน และหายดีภายใน 30-45 วัน โดยเหลือแผลเป็นเนื้องูน้อยมาก นอกจากนี้มีการนำครีมผักบุ้งทะเล ดังกล่าวมาทาผื่นที่เกิดจากแมลง Paederus 8 คน พบว่า ผื่นจะหายภายใน 5-7 วัน มีผลเท่ากับการใช้ corticosteroid cream และทดลองใช้กับผู้ป่วยที่เป็นตุ่มพุพองเรื้อรังจากการแพ้ยุง 3 คน พบว่า IPA ทำให้อาการหายได้ดีกว่า corticosteroid cream (พัชรี สุนทรพะลิน ศศิธร วสุวัต, 2528)

สำหรับการทดสอบความเป็นพิษพบว่า เมื่อให้สารสกัดน้ำจากใบและสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ทางปากสุนัข ขนาด 2 ก./ตัว และ 1 ก./ตัว (Christensen and Reese, 1938) และเมื่อให้สารสกัดอีเทอร์จากใบทางปากหนูขาว ขนาด 7.5 ก./กก. ไม่พบพิษ (ศศิธร วสุวัต พัทรี สุนทรพะลิน, 1984) เมื่อฉีดสารสกัดเอทานอล:น้ำ เข้าช่องท้องแมว ขนาด 4.3 ก./ตัว และให้ทางปาก ขนาด 1.8 ก./ตัว ไม่พบพิษภายใน 24 ชม. (Cwalina and Jenkins 1938) เมื่อฉีดสารสกัดเอทานอล:น้ำ (1:1) จากทั้งต้น เข้าช่องท้องหนูถีบจักร ความเข้มข้นของสารที่ทำให้สัตว์ทดลองตายครึ่งหนึ่ง (LD50) มากกว่า 1,000 มก./กก. (Aswal et al. 1984) และเมื่อฉีดสารสกัดเอทานอล 90% จากผลและใบ เข้าช่องท้องหนูถีบจักร ค่า LD50 เท่ากับ 0.562 และ 0.681 ก./กก. ตามลำดับ (Bhakuni et al, 1992) นอกจากนี้ยังพบการทดสอบความเป็นพิษอื่นๆ ดังนี้

- การทดสอบความระคายเคือง สารสกัดอีเทอร์จากใบ ไม่ก่อให้เกิดความระคายเคืองเบื้องต้นต่อผิวหนังธรรมดาและผิวหนังขูดลอกของกระต่ายภายใต้สภาวะปิดป้องกันการระเหยของตัวยานาน 24

ชม. (ศศิธร วสุวัต พัชรี สุนทรพะลิน, 1984) และสารสกัดอีเทอร์จากใบในรูปครีม 1% ทดสอบด้วยวิธี closed patch test ในคนปกติ 50 คน ไม่พบปฏิกิริยาการแพ้ภายใน 24 ชม. (พัชรี สุนทรพะลิน ศศิธร วสุวัต, 2528)

- ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ สารสกัดอีเทอร์จากใบ (ศศิธร วสุวัต พัชรี สุนทรพะลิน, 1984) และสารสกัดจากทั้งต้น ความเข้มข้น 400 มคก./จานเพาะเชื้อ (Ostraff et al., 2000) ไม่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ของ Salmonella typhimurium TA98 (ศศิธร วสุวัต พัชรี สุนทรพะลิน, 1984; Ostraff et al., 2000) และ TA100 (ศศิธร วสุวัต พัชรี สุนทรพะลิน, 1984)

- พิษต่อเซลล์ สารสกัดเอทานอล : น้ำ (1:1) จากทั้งต้น ความเข้มข้น 25 มคก./มล. ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ CA-9KB (Aswal et al., 1984)

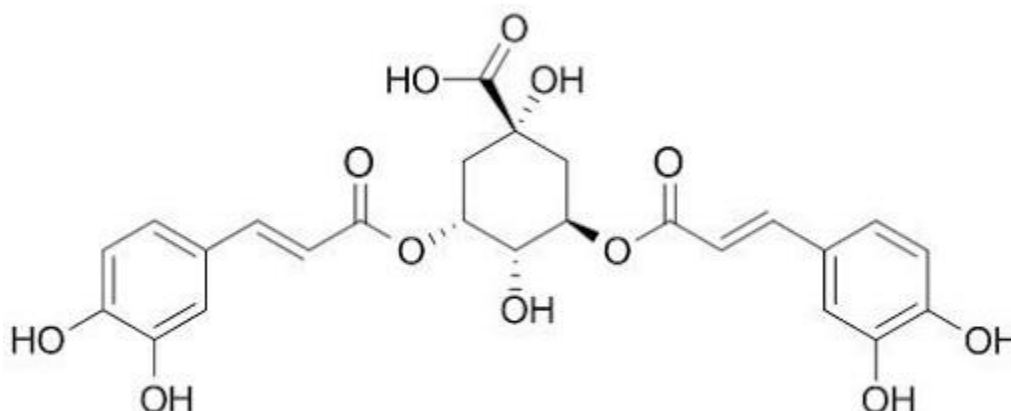
- พิษต่อระบบสืบพันธุ์ สารสกัดเอทานอล 90% จากผล ความเข้มข้น 2% ไม่มีผลฆ่าสเปิร์มในหนูขาวเพศผู้ และสารสกัดเอทานอล 90% จากใบและผล ขนาด 100 มก./กก. ไม่มีผลด้านการฝังตัวของตัวอ่อนในหนูขาวที่ตั้งท้อง (พัชรี สุนทรพะลิน ศศิธร วสุวัต, 1985) เมื่อให้สารสกัดเหลวทางปากแก่แม่ที่ตั้งท้อง ขนาด 1 ก./กก. ไม่ทำให้แท้งภายใน 24 ชม. (Cwalina and Jenkins, 1938)

- ผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด และระบบการหายใจ สารสกัดเอทานอล 90% จากใบและผล ขนาด 50 มก./กก. ฉีดเข้าเส้นเลือดดำสุนัข พบว่าไม่มีผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด ไม่ทำให้หัวใจเต้นช้าลงและไม่กดระบบการหายใจ (Bhakuni et al, 1992)

- ผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง สารสกัดจากใบ ขนาด 1 ก./กก. ให้ทางสายยางให้อาหาร และฉีดเข้าช่องท้องหนูถีบจักร พบว่ามีผลอย่างอ่อนต่อระบบประสาทส่วนกลาง (Cox, 1989) Damasconone เป็นสารประกอบทางเคมีที่พบในน้ำมันหอมระเหย (essential oil) มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{15}H_{26}O$ ชื่อทางเคมีคือ (E)-1-(2,6,6-trimethylcyclohexa-1,3-dien-1-yl)but-2-en-1-one มีฤทธิ์ด้านฮีสตามีน และต้านพิษแมงกะพรุนได้

จากข้อมูลฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของผักบุ้งทะเลดังกล่าว ในปี 2528 พัชรี สุนทรพะลิน และศศิธร วสุวัต ได้ทำการทดสอบโดยใช้สารที่สกัดจากใบผักบุ้งทะเลโดยใช้อีเธอร์ และทำเป็นรูปของครีม(1%) โดยการทำให้ closed patch test ในคนปกติแล้วอ่านผลภายใน 48 ชั่วโมง พบว่าไม่มีปฏิกิริยาการแพ้ต่อผิวหนังคนปกติและไม่ใช้สารก่อระคาย และศึกษาในผู้ป่วยผิวหนังอักเสบจากพิษแมงกะพรุน จำนวน 12 คน โดยผู้ป่วย 5 คน ถูกแมงกะพรุนในวันแรกและทายาทันทีและมีเพียงตุ่มแดง พบว่าอาการแดงคันหายไปภายใน 2 วัน และผู้ป่วยอีก 7 คน ถูกแมงกะพรุนมานาน 3-30 วัน มีผื่นแดง รอยไหม หรือแผลแล้ว พบว่าแผลหายร้อยละ 50 ภายใน 7 วัน และหายสนิทภายใน 30 - 45 วัน โดยที่มีแผลเป็นนูนูนน้อยมาก

กรดควินิก (3,5-Di-O-caffeoylquinic acid) เป็นสารกลุ่มไซคลิกทอลและกรดไซโคลเฮกเซนคาร์บอกซิลิก มีลักษณะเป็นผลึกไม่มีสี ละลายน้ำได้ (ภาพที่ 4)



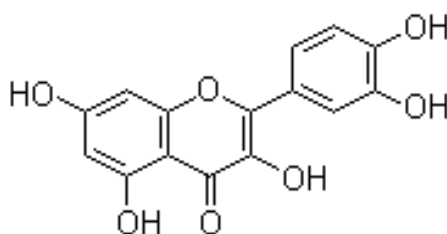
ภาพที่ 4 โครงสร้างของ 3,5-Di-O-caffeoylquinic acid

ในปี 2017 da Silva Barth และคณะ พบว่า สารสกัดผักบุ้งทะเล 50% EtOH เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการยอมรับในการรักษาอาการเจ็บปวดทางผิวหนัง โดยพบว่าสารประกอบ 3,5-Di-O-caffeoylquinic acid มีผลต่อการแทรกแซงกลไกบริเวณช่องรับสัญญาณ TRPV1, B2R and PAR-2 เมื่อมีการยับยั้งในบริเวณดังกล่าว ส่งผลให้เกิดการลดการตอบสนองของเซลล์ประสาท ทำให้อาการปวดบรรเทา

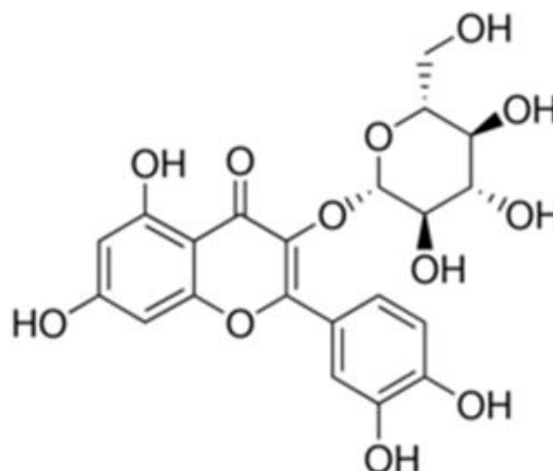
เคอซีทิน (Quercetin) และเคอซีทินทรีกลูโคไซด์ (Quercetin-3-glucoside) เป็นหนึ่งในสารฟลาโวนอยด์ หรือ ไฟโตนิวเทรียนท์ หมายถึง สารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบเฉพาะในพืช สารกลุ่มนี้อาจเป็นสารที่ทำให้พืชผักชนิดนั้นๆ มีสี กลิ่นหรือรสชาติที่เป็นลักษณะเฉพาะตัว สารฟลาโวนอยด์เหล่านี้หลายชนิดมีฤทธิ์ต่อต้านหรือป้องกันโรคบางชนิดและโรคสำคัญที่มักอ้างว่าสารกลุ่มนี้ช่วยป้องกันได้ คือ “โรคมะเร็ง”

เคอซีทินและเคอซีทินทรีกลูโคไซด์ (ภาพที่ 5-6) เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นสารที่ให้ฤทธิ์ในการต้าน ออกซิเดชันสูงสุด มีมากในหัวหอม หอมแดง และพืชตระกูลถั่ว ให้ฤทธิ์ในการป้องกันการอักเสบ ป้องกันแบคทีเรีย และไวรัส ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันต้านทานโรค ควบคุมการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน ช่วยป้องกันอาการแพ้ ป้องกันการแข็งตัวของเลือด ป้องกันการเกิดออกซิเดชัน ในหลอดเลือด และป้องกันหลอดเลือดเลี้ยงสมองอุดตัน ป้องกันไม่ให้เกิดลิ่มเลือดในหลอดเลือด ลดการเป็นพิษต่อเซลล์ไขมันแอลดีแอล (LDL) จากการทดลองกลไกที่สำคัญในการทำงานของหลอดเลือด หัวใจและลดความเสี่ยงต่อการเป็น

โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ นอกจากจะมีบทบาทสำคัญในการต่อต้านเซลล์มะเร็ง แล้วยังยับยั้งวงจรชีวิตเซลล์ หยุดการขยายตัวของเซลล์ และรวมถึงการทำให้เกิดอะพอโทซิส (apoptosis) หรือการตายของเซลล์ในการเจริญเติบโตของเซลล์เต้านมที่ผิดปกติได้



ภาพที่ 5 โครงสร้างของ Quercetin



ภาพที่ 6 โครงสร้างของ Quercetin-3-glucoside

เนื่องจากสารประกอบในพืชมีมากมายหลายชนิด และมีคุณสมบัติแตกต่างกันมาก การเลือกตัวทำละลายที่จะได้สารทุกกลุ่มที่ต้องการจึงทำได้ยาก นอกจากนี้ยังมีปัญหาที่สารหลายชนิดอยู่ปนกัน อาจเกิดการจับกันอย่างหลวมๆ ทำให้การละลายของสารแตกต่างออกไปจากคุณสมบัติในการละลายของสารแต่ละชนิด จะพบบ่อยๆ ว่าสารที่แยกจากตัวทำละลายชนิดหนึ่ง เช่น น้ำ เมื่อแยกเป็นสารบริสุทธิ์แล้วกลับไม่ละลายในน้ำ อย่างซาโปนินหรือสารที่มีคุณสมบัติเป็น wetting agent จะช่วยทำให้เกิด micelle ทำให้การละลายของสารที่ไม่มีขั้ว สามารถผสมกับน้ำได้มากขึ้น ดังนั้นจึงเป็นการยากที่จะหาตัวทำละลายที่สมบูรณ์สามารถสกัดสารได้ทุกชนิด ดังนั้นเพื่อไม่ให้เกิดผลการทดลองผิดพลาดจึงมีผู้แนะนำให้สกัดสารโดยใช้ตัวทำละลายหลายๆ ชนิดแต่การใช้ตัวทำละลายหลายๆ ชนิด อาจทำให้เสียเวลา บางคนจึงนิยมใช้ตัวทำละลายชนิดเดียว คือ แอลกอฮอล์หรือส่วนผสมแอลกอฮอล์และน้ำ เนื่องจากละลายได้ทั้งสารมีขั้ว

และไม่มีขี้ อัตราส่วนที่ได้ผลดีคือ แอลกอฮอล์ 80% อาจเป็นเมทานอล หรือเอทานอลก็ได้ แม้ว่าจะไม่ใช่ตัวทำละลายที่ดีที่สุดในกลุ่มแต่ก็สามารถสกัดได้มากกลุ่มและจำนวนมากพอที่จะตรวจสอบเบื้องต้น (ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย มหาวิทยาลัยมหิดล, 2546)

การเลือกใช้ตัวทำละลาย

ในการสกัดจะได้ผลดีหรือไม่อยู่ที่การคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายที่ดีควรมีคุณสมบัติ

1. เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่เราต้องการสกัดได้ดี
2. ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป
3. ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด
4. ไม่เป็นพิษ
5. ราคาพอสมควร

ในการเลือกใช้ตัวทำละลายเราอาศัยหลักเกณฑ์ต่อไปนี้ คือ

1. สารละลายและตัวทำละลายมีคุณสมบัติความมีขี้คล้ายกัน
2. ละลายสารที่ต้องการออกมามากที่สุด ในขณะที่ละลายสารที่ไม่ต้องการออกมาน้อยที่สุด
3. แรง (Force) แรงที่เกี่ยวข้องในการละลาย

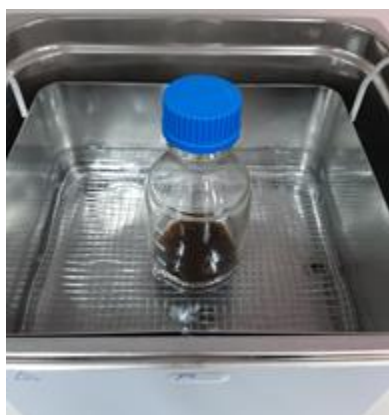
การสกัดสารสำคัญจากพืชอาจทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัด คุณสมบัติของสารในกรณีของความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้แต่ละวิธีมีข้อดีและข้อจำกัด (ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย มหาวิทยาลัยมหิดล, 2546) วิธีเหล่านี้ ได้แก่

(1) **การแช่ (Maceration)** เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยวิธีหมักพืชกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด (ภาพที่ 7) เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปชมพู่ หรือโถ โดยนำตัวอย่างพืชที่บดละเอียด เติมน้ำหรือตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพดีในการสกัดพืชแล้วแต่อัตราส่วนตามที่ต้องการ ทิ้งไว้ 12-24 ชั่วโมงหรือมากกว่านั้นแต่ไม่เกิน 2 วัน (กรมวิชาการเกษตร, 2535) หรือพืชบางชนิดที่ทิ้งไว้ 7 วัน เมื่อครบกำหนดเวลาทำการกรองเอาสารสกัดออก พยายามบีบเอาสารละลายออกจากกาก (marc) ให้มากที่สุด วิธีนี้มีข้อดีที่สารไม่ถูกความร้อน แต่เป็นวิธีที่เปลืองตัวทำละลายมาก (ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย มหาวิทยาลัยมหิดล, 2546)



ภาพที่ 7 การแช่ (Maceration)

(2) การสกัดด้วยเครื่องให้ความถี่สูง (Ultrasound assisted extraction) เนื่องจากกระบวนการสกัดโดยวิธีการหมักช้า จึงมีผู้ดัดแปลงใช้ mixer หรือ homogenizer มาช่วยทำให้เซลล์พืชแตกออก การสกัดจึงเร็วขึ้น เรียกวิธีการสกัดนี้ว่า Vortical (turbo) extraction โดยใช้ความถี่ที่มีความสูงเกิน 20,000 Hz (ภาพที่ 8) แต่การใช้เสียงช่วยในการสกัด อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำไปเป็น peroxide ซึ่งอาจมีผลต่อสารที่สกัด และยังอาจทำให้เกิดการ oxidation ต่อสารโดยตรง เพราะขณะที่ใช้ ultrasound จะเกิดช่องว่างและมีอากาศเข้าไปแทรกในตัวทำละลาย นอกจากนี้ยังอาจเพิ่มความเร็วในการสกัด โดยเพิ่มอุณหภูมิ แต่ต้องระวังการสลายตัวของสารสำคัญ (ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย มหาวิทยาลัยมหิดล, 2546)

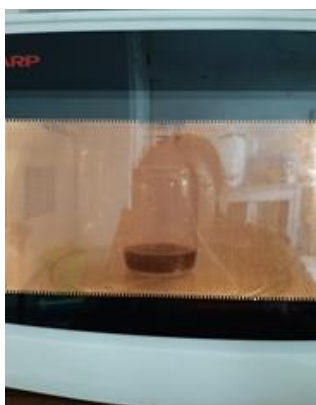


ภาพที่ 8 การสกัดด้วยเครื่องให้ความถี่สูง (Ultrasound assisted extraction)

(3) การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave-Assisted Extraction) (ภาพที่ 9) คลื่นไมโครเวฟเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่อยู่ในช่วง 3×10^2 ถึง 3×10^9 เมกะเฮิร์ตซ์ และความยาวคลื่น

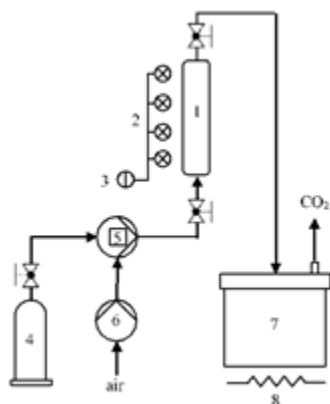
อยู่ในช่วง 0.001 ถึง 1 เมตร เป็นคลื่นที่อยู่ระหว่างคลื่น Far infrared และคลื่นกระจายเสียงวิทยุเอฟเอ็ม (FM broadcast radio) ของสเปกตรัมแม่เหล็กไฟฟ้า กระบวนการทำความร้อนของคลื่นไมโครเวฟ เกิดจากกระบวนการถ่ายเทพลังงานจาก 2 กลไก ได้แก่ dipole rotation และ ionic conduction ผ่านการเปลี่ยนแปลง dipole และแทนที่ไอออนที่มีประจุในสารและตัวทำละลาย โดยที่ทั้งสองกระบวนการเกิดขึ้นพร้อมๆกัน การเคลื่อนย้ายไอออนจากการเปลี่ยนแปลงสนามไฟฟ้า เรียกว่า ionic conduction หากตัวทำละลายต้านการเคลื่อนที่ของไอออน จะส่งผลให้เกิดแรงเสียดทาน และทำให้เกิดความร้อนขึ้น การปรับเปลี่ยน dipole ของโมเลกุลร่วมกับการเปลี่ยนแปลงสนามไฟฟ้า เรียกว่า dipole rotation โดยที่ความถี่ 2450 เมกะเฮิรตซ์ คลื่นไมโครเวฟเปลี่ยน electric component ด้วยความเร็ว 4.9×10^8 ครั้งต่อวินาที จึงเกิดความร้อนขึ้นจากแรงเสียดทาน เมื่อตัวทำละลายจัดเรียงตัวเองด้วยการเปลี่ยนสนามไฟฟ้า แต่โมเลกุลไม่สามารถจัดเรียงตัวเองได้ ความร้อนจะไม่เกิดขึ้นเมื่อความถี่สูงกว่า 2450 เมกะเฮิรตซ์และการเปลี่ยนแปลง electrical component ที่ความเร็วสูง นอกจากนี้ความร้อนจะไม่เกิดขึ้นเมื่อความถี่ต่ำกว่า 2450 เมกะเฮิรตซ์และการเปลี่ยนแปลง electrical component ที่ความเร็วต่ำ เช่นเดียวกัน

การถ่ายเทพลังงานเป็นคุณสมบัติหลักของการทำความร้อนของคลื่นไมโครเวฟ โดยปกติการถ่ายเทความร้อนของกระบวนการสกัดแบบดั้งเดิมนั้น พลังงานจะถ่ายเทไปยังสมุนไพรโดยการพาความร้อน (convection) การนำความร้อน (conduction) และการแผ่รังสี (radiation) ผ่านพื้นผิวภายนอกของสมุนไพรที่มีความแตกต่างของอุณหภูมิ (thermal gradient) ในกรณีของการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ พลังงานไมโครเวฟถูกนำส่งโดยตรงไปยังสมุนไพรผ่านอันตรกิริยาระดับโมเลกุล (molecular interaction) ด้วยสนามแม่เหล็กไฟฟ้าผ่านการเปลี่ยนแปลงพลังงานแม่เหล็กไฟฟ้าไปเป็นพลังงานความร้อน



ภาพที่ 9 การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave-Assisted Extraction)

(4) การสกัดสารด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวด (Sub-supercritical CO₂ extraction) (ภาพที่ 10) ที่จุดซึ่งอุณหภูมิและความดันเหมาะสม สารที่อยู่ในภาชนะจะไม่กลั่นตัว (condense) หรือไม่ระเหย แต่อยู่ในลักษณะเป็นของเหลว เรียกสภาวะนี้ว่า critical state เช่น carbondioxide มี critical state ที่ 1°C และ 72.9 atm/7.39 MPa ในทางปฏิบัติถ้าสารอยู่เหนือ critical temperature และ pressure สารจะอยู่ในสภาวะที่มีคุณสมบัติระหว่างของเหลว และก๊าซ จึงทำให้สามารถกระจายตัวได้ดี เช่น ก๊าซ และละลายสารได้ดี เช่น ของเหลวจึงทำให้สามารถสกัดสารออกจากพืชได้ดีกว่าปกติ ก๊าซที่ใช้ในการสกัดสารจากพืชที่ นิยมกัน คือ CO₂ ซึ่งเมื่อสกัดสารเรียบร้อยแล้ว การเปลี่ยนสภาวะอุณหภูมิและแรงดัน จะทำให้ CO₂ เปลี่ยนเป็นก๊าซ ทั้งสารสกัดไว้ ข้อดี คือ ทำให้ลดมลภาวะจากตัวทำละลายอินทรีย์ และลดอันตรายที่เกิดจากตัวทำละลายอินทรีย์ต่อสุขภาพ เช่น คลอโรฟอร์ม แต่จะมีข้อจำกัดคือเหมาะสำหรับ สารไม่มีขี้ การจะเพิ่มความมีขี้ขึ้น ทำได้โดยเติมเมธานอลลงไปผสมด้วย นอกจากนี้แล้ว CO₂ ที่บริสุทธิ์ในบ้านเรายังมีราคาแพง และการสกัดสารสกัดเบื้องต้น มักมี resin ซึ่งอาจจะตกตะกอน และอุดตันที่ช่องที่สารสกัดจะไหลออกมา แม้จะมีการแก้ปัญหาโดยใช้ความร้อนช่วยก็ตาม ในทางอุตสาหกรรมจึงจำเป็นต้องออกแบบให้เหมาะสมกับการสกัดแต่ละชนิด



ภาพที่ 10 การสกัดสารด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวด (Sub-supercritical CO₂ extraction)

(5) การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูง (Pressurized hot water extraction) (Just et. al., 2016) เป็นเทคนิคการสกัดด้วยน้ำโดยใช้ความดันสูง (ภาพที่ 11) เครื่องชงกาแฟใช้น้ำร้อนอุณหภูมิประมาณ 93 °C ผ่านแท่นบดกาแฟที่ความดัน ~9 bar โดยมีหลักการพื้นฐาน 4 ประการ คือ

5.1 ความสามารถในการละลายของสารตัวอย่าง

5.2 ความดันของเครื่องชงกาแฟช่วยให้การปลดปล่อยสารที่ละลายในน้ำได้น้อยออกมา

มากขึ้น

5.3 การลดความร้อนของตัวทำละลายที่ผ่านสารตัวอย่างช่วยให้การละลายของสารตัวอย่างดีขึ้น

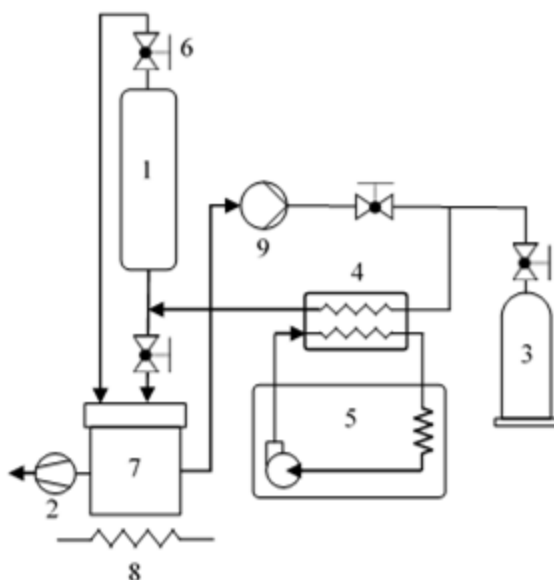
5.4 การใช้น้ำเป็นเฟสเคลื่อนที่ช่วยให้สารประกอบออกจากตัวอย่าง



ภาพที่ 11 การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูง (Pressurized hot water extraction)

(6) การสกัดสารด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวดด้วยสารทำความเย็น (Sub-supercritical fluid extraction)

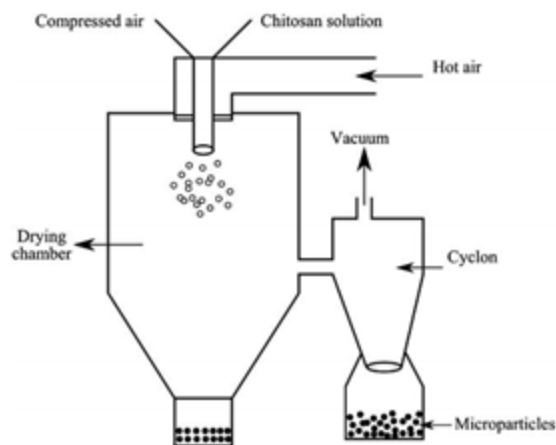
สารทำความเย็น R134a เป็นเทคนิคการพัฒนากระบวนการสกัดแนวใหม่ โดย R134a มีคุณสมบัติคล้ายกับคาร์บอนไดออกไซด์ คือเป็นก๊าซเหลว (Liquidified Gas) ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ไม่มีพิษ เป็นตัวทำละลายชนิดไม่มีขั้ว (non-polar solvent) แต่มีข้อดีกว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์คือ เมื่อใช้ในกระบวนการสกัดจะสามารถทำได้ที่ความดันและอุณหภูมิที่ต่ำกว่าการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 การสกัดสารด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวดด้วยสารทำความเย็น (Sub-supercritical fluid extraction)

(7) การอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer)

เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dry) (ภาพที่ 13) เป็นวิธีการที่นิยมใช้สำหรับการทำแห้งสารละลายอินทรีย์ สารประเภทอิมัลชัน (Emulsion) และของเหลวชนิดต่าง ๆ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จะอยู่ในรูปของผงแห้ง มักใช้วิธีนี้ในอุตสาหกรรมทางเคมีและอาหาร ผลิตภัณฑ์ส่วนหนึ่งที่ได้จากการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มีวางขายในปัจจุบันได้แก่ นมผง อาหารเด็ก ยา และสีย้อม การอบแห้งด้วยวิธีนี้ นอกจากจะใช้สำหรับทำแห้งอย่างรวดเร็วแล้ว ยังเป็นวิธีการที่มีประโยชน์มากในการลดขนาดและปริมาตรของเหลวอีกด้วย และจากการวิจัยและพัฒนาที่ต่อเนื่องกันมาทำให้วิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอยกลายเป็นวิธีการอบแห้งที่มีประสิทธิภาพและนิยมนำมาใช้อบแห้งให้กับผลิตภัณฑ์หลายชนิดในปัจจุบัน



ภาพที่ 13 การอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer)

การทำให้สารสกัดเข้มข้น

เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้มามากจะมีปริมาณสูงและเจือจาง ทำให้นำไปแยกส่วนได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อน ซึ่งอาจทำได้หลายวิธี คือ

1. การระเหย (free evaporation) คือ การนำตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (water bath) หรือ แผ่นความร้อน (hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้เนื่องจากอุณหภูมิสูงเกินไป และหากใช้สารละลายอินทรีย์ (organic solvent) ในการสกัด การระเหยโดยให้ความร้อนโดยตรง (direct heat) บนแผ่นความร้อน อาจเกิดอันตรายได้ง่าย นอกจากนี้ควรคำนึงถึงอุณหภูมิที่จะทำให้เกิดการสลายตัวของสารสำคัญ เมื่อใช้ความร้อน (รัตนา, 2547)

2. การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (distillation in vacuum) เป็นวิธีการระเหยโดยกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำ และลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ vacuum pump เครื่องมือนี้เรียกว่า rotary evaporator ซึ่งจะประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบที่จะกลั่น (distillation flask) ส่วนคอนเดนเซอร์หรือส่วนควบแน่นไอสารละลาย (condenser) และภาชนะรองรับสารละลายหลังจากการกลั่น (receiving flask) โดยสารสกัดอย่างหยาบซึ่งบรรจุในภาชนะจะแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้และจะหมุน (rotate) ตลอดเวลาทำงาน เพื่อที่จะได้กระจากความร้อนได้ทั่วถึงและสม่ำเสมอ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบนี้จะต่อเข้ากับส่วนควบแน่น ซึ่งมีระบบทำความเย็นหล่ออยู่ตลอดเวลา ปลายของส่วนควบแน่นจะมีภาชนะรองรับ โดยทั้งระบบจะต่อเข้ากับระบบสุญญากาศ สารละลายที่ระเหยออกจากภาชนะบรรจุจะควบแน่นที่บริเวณคอนเดนเซอร์และหยดลงมาใน

ภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่นซึ่งสารละลายดังกล่าวสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์และนำกลับมาใช้ใหม่ได้ (รัตนา, 2547)

3. การทำให้แห้ง (drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากรุ่น้ำยาสกัดจนแห้งได้สารสกัดออกมาในสภาพของแข็งหรือกึ่งของแข็ง มีหลายวิธี เช่น การใช้ความเย็น (lyophilizer หรือ freeze dryer) หรือการใช้ความร้อน (spary dryer) (รัตนา, 2547)

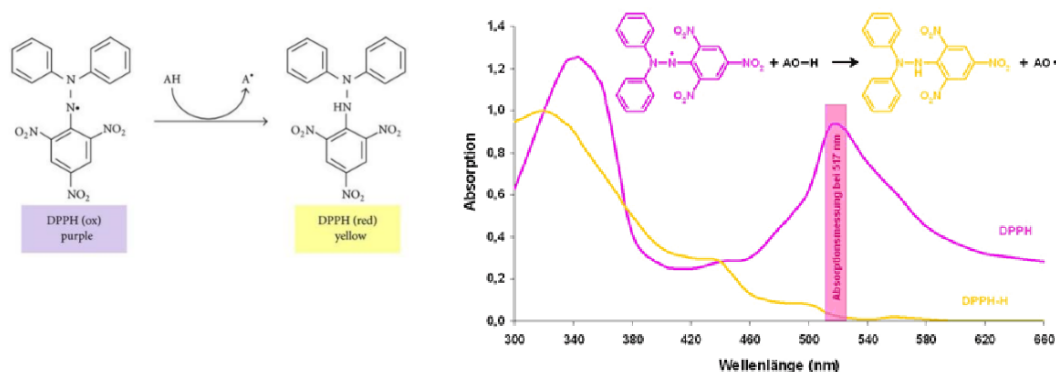
4. อัลตราฟิลเทรชัน (ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (membrane) ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) สูงกว่า 5,000 (รัตนา, 2547)

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพร

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี (bioactive screening based on chemical reaction) อาศัยการเกิดปฏิกิริยาเคมีเพื่อทดสอบว่าสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ต้องการหรือไม่ เช่น การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) ด้วยวิธี DPPH และ ABTS เป็นต้น

- การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay (ภาพที่ 14)

DPPH หรือ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl มีสถานะเป็นอนุมูลอิสระ (DPPH) ที่มีความคงตัวโดย สภาพธรรมชาติ เมื่อ DPPH อยู่ในรูปสารละลายใน absolute ethanol จะมีสีม่วง และเมื่อทำปฏิกิริยากับสาร ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะทำให้สารละลาย DPPH สีจางลง



ภาพที่ 14 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay

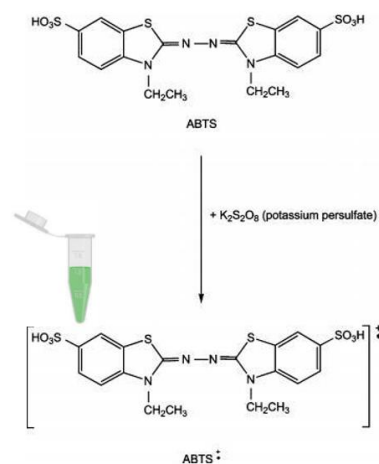
ข้อดีคือ ง่าย ไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลจากธรรมชาติ ยกเว้นสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่มีการดูดกลืนแสง ในช่วงเดียวกัน

ข้อด้อยคือ อนุมูลDPPH มีความคงตัว ไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือในร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้ นอกจากนี้โครงสร้าง ทางเคมีของ

อนุมูล DPPH นั้น อิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระจะถูกบดบังด้วยวงเบนซีน 3วงและหมู่ไนโตร ท ทำให้ สารต้านอนุมูลที่มีฤทธิ์แรงแต่มีขนาดใหญ่บางสารไม่สามารถเข้าไป ท ปฏิกริยาก จัดอนุมูลอิสระได้หรือ เกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่าความเป็นจริง

- การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay (ภาพที่ 15)

ABTS radical cation decolorization assay เป็นวิธีการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูล อี ส ระ ABTS•+ (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical) เป็ น สาร สั งเคราะห์ที่มีสีเขียวปน น้ำเงินสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร



ภาพที่ 15 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay

ข้อดีของวิธีการนี้คือ ABTS•+ ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ จึงทำปฏิกิริยาได้อย่าง รวดเร็วและทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง

ข้อเสียคือ ABTS•+ ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของ สิ่งมีชีวิตและต้องมีการ ทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

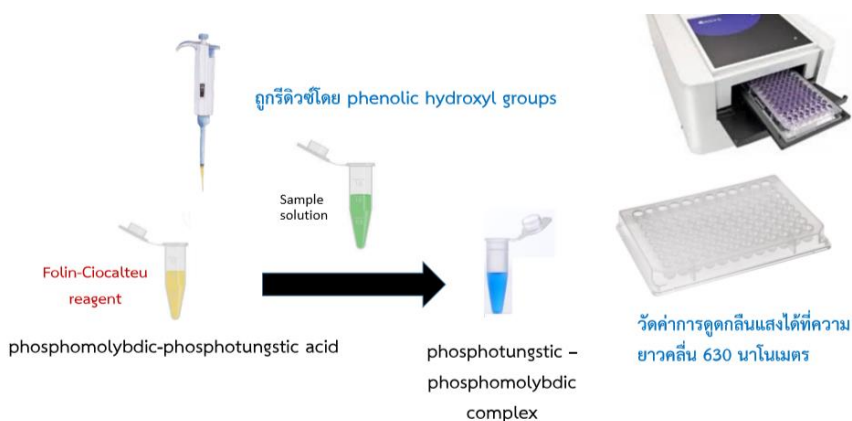
สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) คือ สารที่มีสูตร โครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซีนและมี หมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อย 1 หมู่ ดังนั้นโครงสร้าง ทางเคมี ของสารประกอบฟีนอลิกพื้นฐานจึงได้แก่ สารฟีนอล

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารในกลุ่ม secondary metabolite ที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด รูปแบบของสารประกอบฟีนอลิกในพืชแต่ละชนิดจึงแตกต่างกันออกไป สารประกอบฟีนอลิกในพืชกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

นักวิทยาศาสตร์ส่วนใหญ่ให้ความสนใจคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก มากเป็นพิเศษ นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือดและมะเร็ง โดยทำหน้าที่ ก าจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว

การตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) มีหลักการคือ วัดปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบทั้งหมดที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ในโมเลกุล โดยไม่คำนึงถึงน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกนั้นๆ ดังนั้น การวิเคราะห์ในรูปแบบนี้จึงไม่มี การระบุชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง

หลักการคือสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดทำปฏิกิริยากับFolin-Ciocalteu reagent ซึ่งประกอบด้วย phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents สารดังกล่าวจะถูกรีดิวซ์โดย phenolic hydroxyl groups ของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเกิดเป็น phosphotungstic – phosphomolybdic complex ซึ่งมีสีน้ำเงินและสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพโดยใช้การทำงานของสารชีวเคมี (bioactive screening based on biochemical reaction) อาศัยการทำงานของสารชีวเคมี เช่น เอนไซม์ชนิดต่างๆ เพื่อตรวจวัดผลิตภัณฑ์ (product) ที่เกิดขึ้น เช่นการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (anti-tyrosinase)

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพโดยใช้การทำงานของสิ่งมีชีวิต (bioactive screening based on biological organism) อาจทดสอบโดยใช้สิ่งมีชีวิตทั้งร่างกาย ระดับเซลล์ ระบบหรืออวัยวะ ซึ่งแบ่งย่อยเป็น การทดสอบในหลอดทดลอง (in vitro assay) การทดสอบในสัตว์ทดลอง (in vivo assay) การทดสอบโดยใช้อวัยวะหรือส่วนหนึ่งส่วนใดของสิ่งมีชีวิตมาทดสอบในหลอดทดลอง (ex vivo assay)

ผลิตภัณฑ์ยาทาภายนอกที่พบได้ในปัจจุบันมีหลากหลายรูปแบบทั้ง ครีม (cream) ขี้ผึ้ง (Ointment) เจล (Gel) หรือโลชั่น (Lotion) โดยเฉพาะอิมัลชัน (Emulsion) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบหนึ่งที่ประกอบด้วยของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิด ที่ไม่เข้ากันหรือไม่ละลายซึ่งกันและกัน เช่น น้ำและน้ำมัน ที่ถูกนำมาผสมด้วยกันในลักษณะที่ผสมผสานเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้โดยอาศัยตัวทำอิมัลชัน (emulsifier) แต่ถ้าส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็น 2 ภูมิภาค คือ หยดเล็กๆ ของของเหลวชนิดหนึ่งซึ่งเรียกว่า ภูมิภาคภายใน (internal or dispersed phase) กระจายตัวแทรกอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเรียกว่า ภูมิภาคภายนอก (external or continuous phase) โดยทั่วไปหยดของภูมิภาคภายในอาจทำให้มีขนาดต่าง ๆ กันได้ ตั้งแต่ขนาดเล็กกว่า 0.05 ไมโครเมตร จนถึง 25 ไมโครเมตร ซึ่งขนาดหยดอนุภาคของภูมิภาคภายในนี้มีผลต่อการกระจายแสงได้ต่างกัน จึงทำให้อิมัลชันมีลักษณะภายนอกที่มองเห็นได้แตกต่างกัน (ชุตินา ลิมมัทวาริตรี และคณะ, 2558) โดยทั่วไปอิมัลชันที่พบได้มักมีลักษณะขุ่นขาวคล้ายน้ำนม หรือมีลักษณะโปร่งใส สามารถแบ่งชนิดของอิมัลชันได้ ดังนี้

1. ชนิดของอิมัลชันที่แบ่งตามลักษณะภายนอกที่มองเห็น มี 3 ชนิด คือ

1.1 แมคโครอิมัลชัน (macroemulsion) คือ อิมัลชันที่มีลักษณะขุ่นขาวซึ่งพบได้โดยทั่วไปอนุภาคของภูมิภาคภายในมีขนาดตั้งแต่ 0.25 – 10 ไมโครเมตร (โดยทั่วไปใหญ่กว่า 1 ไมโครเมตร) จึงทำให้เกิดความแตกต่างในค่าดัชนีการหักเหแสงของภูมิภาคทั้งสอง และเกิดการกระจายแสงทำให้มองเห็นอนุภาค อิมัลชันชนิดนี้อาจแบ่งย่อยได้อีกเป็นอิมัลชันเนื้อหยาบ (coarse emulsion) ซึ่งมีขนาดอนุภาคค่อนข้างใหญ่และอิมัลชันเนื้อละเอียด (fine emulsion) ซึ่งมีขนาดอนุภาคค่อนข้างเล็กหรือเล็กกว่า 5 ไมโครเมตรลงไป แมคโครอิมัลชันเป็นอิมัลชันที่พบมากที่สุดทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ของอิมัลชันชนิดนี้ เช่น ไอศกรีม ครีมรักษาโรคผิวหนัง ครีมกันแดด และโลชั่นทาผิว เป็นต้น

1.2 ไมโครอิมัลชัน (microemulsions) มีลักษณะโปร่งใส เนื่องจากอนุภาคของภูมิภาคภายในมีขนาดเล็กมาก (ประมาณ 10-75 นาโนเมตร) ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 1 ใน 4 ของความยาวคลื่นแสงที่มองเห็น

ได้ (visible light) จึงไม่หักเหแสง แสงทะลุผ่านได้ ทำให้มองดูโปร่งใส หยตของวัญภาคภายในมีลักษณะกลมถูกล้อมรอบด้วยฟิล์มของตัวอิมัลชัน มีทั้งชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w) และชนิดน้ำในน้ำมัน (w/o)

1.3 นาโนอิมัลชัน (nanoemulsions) หรือ mini-emulsion มีขนาดอนุภาค 50- 200 นาโนเมตร ซึ่งอนุภาคขนาดเล็กมากทำให้เกิดการลดแรงโน้มถ่วง และมีการเคลื่อนที่แบบไร้ทิศทางหรือการเคลื่อนที่แบบบราวเนียน (Brownian movement) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุทำให้นาโนอิมัลชันไม่เกิดการแยกชั้น

2. ชนิดของอิมัลชันที่แบ่งตามชนิดของของเหลวที่เป็นวัญภาคภายใน และวัญภาคภายนอก
ได้เป็น 3 ชนิด คือ

2.1 อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (w/o emulsion) อิมัลชันชนิดนี้ มีวัญภาคภายในเป็นน้ำ วัญภาคภายนอกเป็นน้ำมัน อิมัลชันชนิดนี้ พบได้บ้างในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมล้างหน้า (cleansing cream) ครีมกลางคืน (night cream) ครีมนวดหน้า (massage cream) และครีมฮอร์โมน (hormone cream) เป็นต้น เนื่องจากอิมัลชันชนิดนี้ มีความเหนอะหนะและล้างน้ำออกยาก จึงไม่เป็นที่นิยม

2.2 อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (o/w emulsion) อิมัลชันชนิดนี้ มีวัญภาคภายในเป็นน้ำมัน วัญภาคภายนอกเป็นน้ำ จึงมีความเหนอะหนะน้อย ทาแล้วกระจายตัวได้ดี ล้างน้ำออกง่าย เป็นที่นิยมมากในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีม และโลชั่นทาผิว (body cream and lotion) ครีมทาหน้า (vanishing cream) ครีมทากันแดด (sunscreen cream) และครีมรองพื้น (foundation cream) เป็นต้น

2.3 อิมัลชันเชิงซ้อน (multiple emulsion) เป็นอิมัลชันที่มีวัญภาคภายในซ้อนกันอยู่ ซึ่งเป็นของเหลวต่างชนิดกัน เช่น w/o/w หรือ o/w/o อิมัลชันเชิงซ้อนนี้ สามารถกลับกลายเป็นอิมัลชันธรรมดาได้ เช่น w/o/w ซึ่งมีน้ำเป็นวัญภาคภายนอก แต่วัญภาคภายในซึ่งเป็นน้ำมันจะมีหยดเล็กๆ ของน้ำซ่อนอยู่อีกที เมื่อกลับกลายเป็นอิมัลชันธรรมดา จะกลายเป็นชนิด o/w พบอิมัลชันชนิดนี้ บ้างในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น cold cream ซึ่งเป็นชนิด o/w/o เป็นต้น

3. ชนิดของอิมัลชันที่แบ่งตามความหนืดของอิมัลชันได้เป็น 2 ชนิดคือ

3.1 โลชั่น (lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ เพราะมีวัญภาคภายนอกในปริมาณที่สูง วัญภาคภายในมักไม่เกิน 35% โลชั่นอาจเป็นทั้งชนิด o/w หรือ w/o ซึ่งอาจมีชื่อเรียกต่างกันออกไป น้ำนม (milky หรือ milky lotion) เป็นรูปแบบที่พบมากที่สุด ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทาผิว โดยเฉพาะผิวแห้งที่มีบริเวณกว้าง เพราะทาแล้วชุ่มชื้น ไม่เหนอะหนะ ดูดี สดชื่น ให้ความรู้สึกสบาย และล้างน้ำออกง่าย ตัวอย่างเช่น โลชั่นทาผิว โลชั่นป้องกันแสงแดด เป็นต้น โลชั่นชนิด w/o มีการใช้บ้าง แต่ไม่นิยมเพราะทาแล้วเหนอะหนะผิว เช่น โลชั่นป้องกันแสงแดด ในกรณีที่ใช้ทาผิวก่อนลงวุ้นน้ำควรเป็นโลชั่นชนิด w/o

เพราะจะกันน้ำได้ดีกว่าชนิด o/w ทั้งยังอาจเติมสารเพิ่มความหนืด (thickening agent) ลงในวัฏภาค น้ำเพื่อให้โลชั่นหนืดขึ้น แต่ยังคงเป็นของเหลวที่ไหลได้

3.2 ครีม (cream) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดสูง (ลักษณะกึ่งแข็ง) เพราะมีส่วนประกอบของไขแข็ง (wax) และกรดไขมัน (fatty acid) หรือไขมันชนิดแอลกอฮอล์ (fatty alcohol) ช่วยเพิ่มความหนืด และช่วยให้เนื้อครีมผสมกับน้ำมันในวัฏภาคน้ำมันได้ ครีมมีทั้งชนิด o/w และ w/o มีความหนืดมากกว่า โลชั่น เพราะมีปริมาณวัฏภาคภายในสูงกว่าคือประมาณ 35-75% แล้วแต่ความหนืดของเนื้อครีมที่ต้องการ โดยมีการใช้สารเพิ่มเนื้อครีม (bodying หรือ stiffening agent) เช่น ไขมันและไขแข็งดังที่กล่าวไว้ข้างต้น นอกจากนี้ กรณีของครีมชนิด o/w อาจมีการเติมสารเพิ่มความหนืดร่วมด้วยในตำรับ เช่น acacia, veegum และ methylcellulose เป็นต้น ซึ่งช่วยเพิ่มความหนืดให้แก่วัฏภาคน้ำ ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่เป็นครีมชนิด o/w ได้แก่ ครีมทาผิว ครีมบำรุงขนอิมพิว ครีมแต่งผม ครีมโกนหนวด ครีมทากันแดด ครีมระงับเหงื่อและขจัดกลิ่นตัว ครีมทาแก้สิว และครีมทาแก้ผ้า เป็นต้น ครีมชนิด w/o ได้แก่ ครีมฮอร์โมน ครีมล้างหน้า ครีมนวดหน้า และครีมแต่งผม เป็นต้น

นอกจากนี้ ยังมีอิมัลชันชนิดพิเศษ คือ anhydrous emulsion ซึ่งไม่มีน้ำอยู่เลย ประกอบด้วย น้ำมันและสาร polyols เช่น glycerin, propylene, glycol และ PEG 400 เป็นต้น อิมัลชันที่ได้อาจมีลักษณะใสหรือขุ่น

ผลิตภัณฑ์รูปแบบอิมัลชัน มีส่วนประกอบหลักที่สำคัญ 3 ส่วน คือ

1. วัฏภาคน้ำ (water phase) ได้แก่ น้ำและสารต่าง ๆ ซึ่งอาจเป็นของแข็งหรือของเหลวที่ละลายได้ในน้ำอาจเป็นสารเพิ่มความหนืด เช่น veegum, acacia, tragacanth, methylcellulose และ carbopol สารดูดความชื้นหรือฮิวเมกแทน (humectant) เช่น glycerin, propylene หรือสารในกลุ่ม glycols สารกันเสีย (preservative) เช่น methylparaben และ sodium benzoate สารลดแรงตึงผิว (surfactant) เช่น tween และ Sodium Lauryl Sulphate สีที่ละลายน้ำได้ เช่น amaranth และ tartrazine สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) เช่น sodium metabisulfite นอกจากนี้อาจเป็นสารออกฤทธิ์อื่นที่ละลายน้ำได้ เช่น cetylpyridinium chloride และ benzalkonium chloride เป็นต้น สารต่างๆ เหล่านี้ สามารถเติมลงในวัฏภาคน้ำได้ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของสูตรในผลิตภัณฑ์แต่ละประเภท

2. วัฏภาคน้ำมัน (oil phase) ได้แก่ น้ำมันชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำมันมะกอก (olive oil) น้ำมันแร่ (mineral oil) น้ำมันละหุ่ง (castor oil) สารในกลุ่มไขมัน เช่น stearyl alcohol, stearic acid, cetyl alcohol และ lanolin ไขแข็ง เช่น permaceti, beeswax, carnauba wax และ paraffin wax สีที่ละลายในน้ำมัน เช่น D&C Red No. 21 และ D&C Orange No.5 น้ำมันหอม เช่น น้ำมันเปปเปอร์มินต์,

orange oil และ perfume oil ชนิดต่าง ๆ สารกันหืน เช่น butyrate hydroxyanisole (BHA) และ butyrate hydroxytoluene (BHT) สารลดแรงตึงผิว (surfactant) เช่น span และ Emulgin C 1000 รวมถึงสารออกฤทธิ์ชนิดต่าง ๆ เช่น ฮอโรโมน และ วิตามิน เป็นต้น ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบในสูตรตำรับของผลิตภัณฑ์แต่ละประเภท

3. ตัวทำอิมัลชัน (Emulsifier) ได้แก่ สารลดแรงตึงผิว เช่น tween, span และ Sodium Lauryl Sulphate คอลลอยด์ที่ชอบน้ำ เช่น acacia และ gelatin ของแข็งอนุภาคละเอียด เช่น bentonite และ colloidal magnesium aluminium silicate เป็นต้น ตัวทำอิมัลชันเป็นหัวใจสำคัญในการผสมผสานให้วัฏภาคน้ำและน้ำมันเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้

ปัจจุบันทางเภสัชกรรม และทางการแพทย์ได้เริ่มมีความสนใจศึกษาระบบนาโนอิมัลชันมากขึ้น เพื่อนำมาใช้ในระบบนำส่งยาที่ควบคุมการปลดปล่อย และสามารถออกฤทธิ์ในบริเวณที่จำเพาะได้ รวมถึงการนำมาใช้ประโยชน์ในทางการนำส่งยาผ่านทางผิวหนัง เพื่อเพิ่มการผ่านชั้นผิวหนัง และค่าชีวประสิทธิผลของยา เพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา เพิ่มความชุ่มชื้นของผิวหนัง เพิ่มความคงตัวของยา นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มอัตราเร็วในการละลาย (dissolution rate) และค่าการละลาย (solubility) ของยา เพิ่มประสิทธิภาพในการแพร่ผ่านชั้นน้ำ เพิ่มการซึมผ่านชั้นเยื่อต่างๆ เป็นการนำส่งยาสู่เป้าหมาย และหลีกเลี่ยงการเสื่อมสลายของยาที่เกิดจากเมตาบอลิซึมที่ตับได้ ในด้านการผลิตระบบนาโนอิมัลชันเป็นระบบที่ง่ายต่อการเพิ่มปริมาณการผลิต ต้นทุนการผลิตต่ำ และมีความคงตัวสูง อีกทั้งเป็นระบบที่ไม่เป็นพิษและไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง และเยื่อต่างๆ ในร่างกาย เนื่องจากไม่ทำลายเซลล์ของมนุษย์และสัตว์ จึงเหมาะที่จะนำมาใช้นำส่งยาที่มีฤทธิ์ในการรักษาได้ (วรนนท์ รังสิมาวงศ์ ธนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์, 2558) Puglia และคณะได้ทำการศึกษาหาโนอิมัลชันในการนำส่ง glycyrrhetic acid ซึ่งมีฤทธิ์ลดการระคายเคือง ลดอาการแดงของผิวหนังและมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ใช้เป็นส่วนประกอบในตำรับยา และเครื่องสำอางผลทาง in vitro และ in vivo พบว่านาโนอิมัลชันสามารถเพิ่มการนำส่ง glycyrrhetic acid ผ่านผิวหนังได้ดีกว่าตำรับที่เป็น O/W อิมัลชัน (Puglia C, et al. 2010) Zhou และคณะได้ทำการพัฒนาตำรับ lecithin nanoemulsion ซึ่งเป็นการนำ lecithin มาใช้แทนสารลดแรงตึงผิวในตำรับและศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ของตำรับพบว่าสามารถเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหนังอย่างมีนัยสำคัญ และยังช่วยเพิ่มการซึมผ่านของ Nile red ซึ่งเป็นสารที่ใช้ศึกษาการซึมผ่านชั้นผิวหนัง ดังนั้นตำรับ lecithin nanoemulsion อาจสามารถนำมาใช้เป็นระบบนำส่งตัวยา หรือสารสำคัญที่มีคุณสมบัติชอบไขมัน (lipophilic) ได้ (Zhou H, et al. 2010) ในปี 2555 ธีญญรัตน์ ไตรบัญญัติกุล และคณะทำการศึกษาหาโนอิมัลชันจากน้ำมันเมล็ดทับทิม พบว่านาโนอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 13.33% (น้ำมันเมล็ดทับทิม และ Lexol®GT-865 อย่างละ 6.67%), สารลดแรงตึงผิว 20.00% (Tween®80

14.00% และ Span^o80 6.00%) และวัฏภาคน้ำ 66.67% (w/w) มีความคงตัวที่ดีที่สุด โดยมีขนาดอนุภาคก่อนและหลังทำการทดสอบความคงตัวเป็น 54.7 ± 0.2 และ 54.6 ± 0.2 nm ($p = 0.180$) pH เป็น 5.9 ± 0.0 และ 6.0 ± 0.0 ($p = 0.102$) และหนืด 32.5 ± 0.0 และ 32.4 ± 0.6 kcps ($p = 0.785$) ในปีเดียวกัน นริศา สาสิงาม และมนต์ทิพย์ ชำของ ทำการศึกษาานาโนอิมัลชันน้ำมันหอมระเหยกานพลู พบว่าการใช้ Tween20 ร่วมกับ Transcutol P ผสมน้ำมันกานพลูและน้ำกลั่น ทำให้เกิด nano-emulsion ได้ถึง 20 อัตราส่วน โดยเฉพาะการใช้ Tween 20:Transcutol P (Smix) ที่อัตราส่วน 3:1 และ Oil:Smix ที่อัตราส่วน 1:9 ได้ขนาดอนุภาคนาโนเล็กที่สุด คือ 10.68 ± 0.11 nm และเมื่อลดปริมาณของ Smix ลงขนาดของอนุภาคเพิ่มขึ้นเป็น 13.06 ± 0.11 nm และ zeta potential เปลี่ยนจาก -0.61 ± 0.47 ถึง -0.27 ± 0.49 mV และยังพบการประยุกต์ใช้นาโนอิมัลชันทางเวชสำอางต่างๆ (อำพล ไมตรีเวช และคณะ) ดังนี้

1. การประยุกต์ใช้นาโนอิมัลชันเพื่อช่วยเพิ่มการดูดซึมของสารสำคัญผ่านผิวหนังหยาบของเหลวที่มีขนาดเล็กของนาโนอิมัลชันทำให้มีพื้นที่ผิวที่มากและเกิดการสะสมบนผิวอย่างสม่ำเสมอ จึงทำให้กระบวนการแทรกซึมของสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนังเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพ Kong และคณะพัฒนานาโนอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water emulsion) จาก hyaluronic acid เพื่อนำส่งสารสำคัญที่ชอบละลายในน้ำมัน (lipophilic ingredient) ผ่านผิวหนังโดยใช้วิตามินอี (-tocopherol) เป็นสารต้นแบบ พบว่านาโนอิมัลชันที่เตรียมได้มีความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังชั้น stratum corneum ไปยังผิวหนังชั้น dermis ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายของวิตามินในเอทานอล โดยไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง

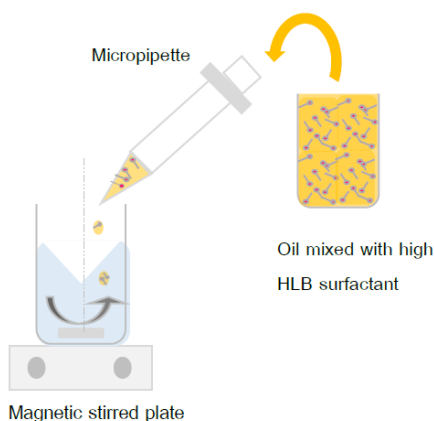
2. การประยุกต์ใช้นาโนอิมัลชันเพื่อช่วยกักเก็บน้ำในผิวหนัง การสร้างฟิล์มปกคลุมบนผิวหนังของนาโนอิมัลชัน ช่วยลดการสูญเสียน้ำจากผิวหนังชั้นนอกทำให้ผิวมีความชุ่มชื้น เพิ่มการเกิดไฮเดรชัน (hydration) จึงเพิ่มการแทรกผ่านของสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนัง แสดงความสามารถในการเก็บกักความชื้นของนาโนอิมัลชัน body milk และ body water โดยที่ 1 และ 24 ชั่วโมงจากทาผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดพบว่า นาโนอิมัลชันให้ความชุ่มชื้นของผิวที่สูงกว่าผลิตภัณฑ์ที่เหลืออีก 2 ชนิด

3. การประยุกต์ใช้นาโนอิมัลชันเพื่อช่วยให้ผลิตภัณฑ์นำใช้ และให้ความรู้สึกที่ดีบนผิวจากคุณสมบัติของนาโนอิมัลชันที่ไม่เป็นอันตราย ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง ไม่อุดตันรูขุมขน ยอมให้อากาศและน้ำไหลผ่านได้ ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของนาโนอิมัลชันนำใช้และให้ความรู้สึกที่ดีหลังการใช้ โดยจากการทดสอบกับกลุ่มอาสาสมัครที่ใช้ body lotion เป็นประจำจำนวน 192 คน โดยให้ใช้ body lotion ชนิดนาโนอิมัลชันวันละครั้งนาน 2 สัปดาห์พบว่า 80 เปอร์เซ็นต์ของอาสาสมัครชอบความเหลวและใสของ body lotion ชนิดนาโนอิมัลชัน 80 เปอร์เซ็นต์ของอาสาสมัครดังกล่าวชอบความสดชื่นที่

ได้รับ 72 เปอร์เซ็นต์ของความชุ่มชื้น และ 84 เปอร์เซ็นต์ของผลทางความงามที่ได้รับ นอกจากนี้ ยังพบว่า 80 เปอร์เซ็นต์ของอาสาสมัครชอบ body lotion ชนิดนาโนอิมัลชันมากกว่าผลิตภัณฑ์เดิมที่เคยใช้ โดย 95 เปอร์เซ็นต์ของอาสาสมัครดังกล่าวต้องการเปลี่ยนมาใช้ body lotion ชนิดนาโนอิมัลชัน

วิธีการเตรียมอิมัลชัน (Ariyaprakai, 2017)

ขั้นตอนการเตรียมนาโนอิมัลชันเริ่มจากการเตรียมส่วนผสมระหว่างน้ำมันและสารลดแรงตึงผิวที่ค่า Hydrophilic Lipophilic Balance (HLB) ที่ค่อนข้างสูง (เช่น $HLB = 11-17$) ในสัดส่วนที่เหมาะสม จากนั้นนำส่วนผสมระหว่างน้ำมันและสารลดแรงตึงผิวค่อยๆ หยดลงในภาชนะบรรจุน้ำโดยใช้ไมโครไปเปตเป็นตัวทำหยาบ โดยภาชนะบรรจุน้ำตั้งอยู่บนแท่นรองกวนแม่เหล็กที่ควบคุมความเร็วรอบในการกวน (ภาพที่ 17) อิมัลชันจะก่อกำเนิดขึ้นเองระหว่างการกวนผสม



ภาพที่ 17 Spontaneous emulsification method by initially applying high HLB surfactants in the oil phase before putting in to the aqueous phase

ปัจจัยที่มีผลต่อขนาดอนุภาคของอิมัลชัน

ประสิทธิภาพในการผลิตนาโนอิมัลชันให้มีอนุภาคขนาดเล็กนั้นขึ้นอยู่กับสมบัติของสารลดแรงตึงผิวเป็นสำคัญ โดยขึ้นปัจจัยต่างๆ ดังนี้ ชนิดของสารลดแรงตึงผิว ชนิดของน้ำมัน สัดส่วนที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิวและน้ำมัน สภาวะการกวน และชนิดและปริมาณของตัวทำละลายที่เติมเพิ่ม

ในงานวิจัยที่ผ่านนิยมใช้สารลดแรงตึงผิวประเภททวินชนิดต่างๆ ได้แก่ ทวิน 20, ทวิน 40, ทวิน 60, ทวิน 80, และทวิน 85 ทวินแต่ละชนิดมีหัวเป็นสายโพลีออกซีเอธิลีนต่อกับซอร์บิทันและมีหางเป็นสายกรดไขมันที่มีความยาวต่างๆ กัน จากการศึกษาส่วนใหญ่พบว่าเมื่อใช้ทวิน 80 (Polyoxyethylene-20-sorbitan-monooleate) และในบางกรณีเมื่อใช้ทวิน 40 (Polyoxyethylene-20-sorbitan-monopalmitate) สามารถผลิตอิมัลชันมีขนาดอนุภาคน้ำมันเล็กกว่าเมื่อทวินชนิดอื่น ๆ นอกจากทวิน

แล้วมีงานวิจัยที่ใช้สารลดแรงตึงผิวประเภทอื่น ๆ อาทิเช่น ฟอสโฟลิปิดที่สกัดจากเมล็ดดอกทานตะวัน และสแปน แต่พบว่าไม่สามารถผลิตเป็นนาโนอิมัลชันได้แต่เป็นอิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคน้ำมันมีขนาดใหญ่ คือมากกว่า 10 ไมโครเมตร ทั้งนี้โครงสร้างที่ต่างกันของสารลดแรงตึงผิวทำให้สารลดแรงตึงผิวมีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลระหว่างที่พื้นผิวระหว่างวัฏภาคน้ำมันและวัฏภาคน้ำต่างกัน เกิดเป็นชั้นสารลดแรงตึงผิวที่มีความโค้งและความยืดหยุ่นต่างๆ ทำให้อนุภาคน้ำมันที่ผลิตได้มีขนาดใหญ่หรือเล็กแตกต่างกัน ตามชนิดของสารลดแรงตึงผิวนั้นๆ

สัดส่วนปริมาณของสารลดแรงตึงผิวต่อปริมาณน้ำมันมีผลต่อขนาดอนุภาคอิมัลชันอย่างเห็นได้ชัด ที่สัดส่วนของสารลดแรงตึงผิวต่อน้ำมันในปริมาณต่ำ อนุภาคน้ำมันจะมีขนาดใหญ่ แต่เมื่อเพิ่มสัดส่วนของสารลดแรงตึงผิวต่อน้ำมันในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น อนุภาคน้ำมันจะมีขนาดลดลง จากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า เมื่อใช้สัดส่วนสารลดแรงตึงผิวต่อน้ำมันสูงถึงประมาณ 0.5–2.0 (หรือใช้ปริมาณสารลดแรงตึงผิว 5–20% โดยน้ำหนัก ผสมในปริมาณน้ำมัน 10% โดยน้ำหนัก) จะสามารถผลิตเป็นอิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคน้ำมันที่เล็กระดับนาโน ทั้งนี้สารลดแรง ตึงผิวมีปริมาณมากเพียงพอในการผลิตอนุภาคน้ำมันที่มีขนาดเล็ก และมีพื้นที่ผิวโดยรอบอนุภาคน้ำมันที่มาก

น้ำมันชนิดต่าง ๆ สามารถใช้ในการเตรียมอิมัลชันโดยวิธีการเกิดอิมัลชันได้เอง ตัวอย่างน้ำมันที่ใช้ในงานวิจัยที่ผ่านมา ได้แก่ น้ำมันคาโนลา น้ำมันปลา น้ำมันเมล็ดองุ่น น้ำมันมะกอก น้ำมันงา น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันไตรกลีเซอไรด์สายกลาง น้ำมันมะนาว และน้ำมันส้ม ซึ่งพบว่าอิมัลชันที่ผลิตจากน้ำมันแต่ละชนิดมีขนาดอนุภาคน้ำมันไม่เท่ากัน มีงานวิจัยพบว่านาโนอิมัลชันที่ผลิตจากน้ำมันไตรกลีเซอไรด์สายกลาง (~100 นาโนเมตร) มีขนาดเล็กกว่าที่ผลิตจากน้ำมันจาวกาน้ำมันแตงกลีนิร (~ 900 –1300 นาโนเมตร) และน้ำมันไตรกลีเซอไรด์สายยาว (>5 ไมโครเมตร) ตามลำดับ จากการศึกษาสมบัติทางกายภาพของน้ำมัน เช่น ความหนืด ความหนาแน่น แรงตึงผิว พบว่าไม่มีความสัมพันธ์สมการเชิงเส้นกับขนาดอนุภาคน้ำมัน นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่ใช้ไขมันสองชนิดผสมกัน เช่น วิตามินอีผสมกับน้ำมันไตรกลีเซอไรด์สายกลาง หรือน้ำมันคาร์วาครอลผสมกับน้ำมันไตรกลีเซอไรด์สายกลาง หรือน้ำมันลิโมนีนผสมกับน้ำมันไตรกลีเซอไรด์สายกลาง พบว่า สัดส่วนผสมของไขมันสองชนิดที่แตกต่างกันมีผลให้อนุภาคน้ำมันมีขนาดต่างกัน

สภาวะในการกวนอิทธิพลต่อขนาดอนุภาคน้ำมันที่เกิดขึ้นจากการเกิดอิมัลชันได้เอง การศึกษาที่ผ่านมาใช้ความเร็วรอบที่ใช้ในการเตรียมนาโนอิมัลชันอยู่ในช่วง 200–800 รอบต่อนาทีและกวนในระยะเวลา 10–15 นาที อิมัลชันมีขนาดอนุภาคที่เล็กลงเกือบครึ่งหนึ่ง เมื่อเพิ่มความเร็วรอบในการกวน จาก 200 รอบต่อนาทีเป็น 800 รอบต่อนาที

การเติมตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เพิ่มในวัฏภาคน้ำมีส่วนช่วยในการลดขนาดอนุภาคน้ำมันและเพิ่มความใสได้ อาทิเช่น เมื่อเติมเอทานอลในปริมาณ 20% และเติมโพลีลีนไกลคอลในปริมาณ 30% ในวัฏภาคน้ำช่วยลดขนาดอนุภาคน้ำมันจาก >100 นาโนเมตร ถึงระดับต่ำกว่า 50 นาโนเมตร ทั้งนี้ตัวทำละลายที่เติมมีผลต่อคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิว อาทิเช่น ปรับความสามารถในการละลายของสารลดแรงตึงผิว ค่าแรงตึงผิว ค่าความโค้งตามธรรมชาติและค่าความยืดหยุ่นของชั้นสารลดแรงตึงผิว

ตารางที่ 1 ทบทวนวรรณกรรมวิธีการเตรียมนาโนอิมัลชันโดยวิธีการเกิดอิมัลชันได้เอง

เอกสารอ้างอิง	ชนิดน้ำมัน (ปริมาณ)	ชนิดสาร ลดแรงตึงผิว (ปริมาณ)	สารเติม เพิ่มอื่นๆ (ปริมาณ)	ขนาดอนุภาคน้ำมันที่เล็ก ที่สุดที่ผลิตได้ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง เฉลี่ย)
Yang <i>et al.</i> , 2012	น้ำมันไตรกลีเซอไรด์ สายกลาง (20% โดยน้ำหนัก)	ทวิน 80, ทวิน 85 และ ทวิน 80 ผสม ทวิน 85 (10% โดย น้ำหนัก)	-	<200 นาโนเมตร
Chang <i>et al.</i> , 2013	น้ำมันคาร์วาครอล (2.5 % โดยน้ำหนัก) ผสมกับน้ำมันไตรกลี เซอไรด์สายกลาง (7.5% โดยน้ำหนัก)	ทวิน 80 (10% โดย น้ำหนัก)	-	55 นาโนเมตร
Saberi <i>et al.</i> , 2013a	วิตามินอีอะซิเตท (10% โดยน้ำหนัก)	ทวิน 80 (10% โดย น้ำหนัก)	-	<50 นาโนเมตร

Saberi <i>et al.</i> , 2013b	วิตามินอี (8% โดยน้ำหนัก) ผสมกับ น้ำมันไตรกลีเซอไรด์ สายกลาง (2% โดยน้ำหนัก)	ทวิน 80 (10 % โดย น้ำหนัก)	-	<50 นาโนเมตร
Davidov-Pardo and McClements, 2015	น้ำมันผสมกับ น้ำมันสกัดจากเมล็ด องุ่นในสัดส่วน 1:1 (10 %โดยน้ำหนัก)	ทวิน 80 (10 %โดย น้ำหนัก)	-	100 นาโนเมตร
Guttoff <i>et al.</i> , 2015	วิตามินดี ผสมกับ น้ำมันไตรกลีเซอไรด์ สายกลาง (10 %โดยน้ำหนัก)	ทวิน 80 (10 %โดย น้ำหนัก)	-	<200 นาโนเมตร
Walker <i>et al.</i> , 2015	น้ำมันปลา (5% โดยน้ำหนัก) ผสมกับ น้ำมันมะนาว (5% โดยน้ำหนัก)	ทวิน 80 (>12.5%โดย น้ำหนัก)	-	~100 นาโนเมตร
Komaiko and McClements, 2015	น้ำมันไตรกลีเซอไรด์ สายกลาง, น้ำมันแต่งกลิ่นรส, น้ำมันไตรกลีเซอไรด์ สายยาว (10 %โดยน้ำหนัก)	สแปน 20 ทวิน 20, 40, 60, 80, และ 85 (20 %โดย น้ำหนัก)	-	~100 นาโนเมตร ถึง >10 ไมครอน (แล้วแต่ชนิดน้ำมัน) (ทวิน 80 ให้ขนาดเล็กสุด)

Komaiko <i>et al.</i> , 2015	น้ำมันไตรกลีเซอไรด์ สายกลาง (5 %โดยน้ำหนัก)	พอสโพลิปิดจาก เมล็ดดอก ทานตะวัน ทวิน 80 (5 %โดย น้ำหนัก)	-	> 10 ไมโครเมตร (สำหรับพอสโพลิปิด) ~200 นาโนเมตร (สำหรับทวิน 80)
Saberi <i>et al.</i> , 2016	น้ำมันไตรกลีเซอไรด์ สายกลาง (3 %โดยน้ำหนัก) ผสมกับ น้ำมันลิโมนีน (7 %โดยน้ำหนัก)	ทวิน 40, 60, 80 (15 %โดย น้ำหนัก)	-	< 30 นาโนเมตร (สำหรับทวิน 40)

นอกจากนี้ จากการศึกษาของเทพิน จันท์มหเสถียร ในปี 2552 ยังพบว่าตำรับโลชันน้ำมันงาในรูปแบบนาโนอิมัลชันที่นำมาทดสอบไม่ทำให้เกิดการแพ้ หรือการระคายเคืองในอาสาสมัคร ซึมซาบเข้าสู่ผิวได้ดี สามารถเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังถึง 64.65% ทำให้ผิวหนังมีริ้วรอยลดลง 13.21% ไม่ทำให้ผิวหนังคล้ำลง หรือมีการแดงขึ้นในบริเวณที่ทดลอง และไม่ทำให้ความมันของผิวหนังเปลี่ยนแปลง อาสาสมัครมีความพึงพอใจโดยรวมต่อลักษณะตำรับนาโนอิมัลชันโลชันจากน้ำมันงาอยู่ในระดับมาก และร้อยละ 70 ของอาสาสมัครเลือกตำรับนาโนอิมัลชันโลชันจากน้ำมันงาเป็นตำรับที่ดีที่สุดเหนือกว่าตำรับอิมัลชันน้ำมันงาแบบหยาบ และตำรับน้ำมันมะกอกแบบหยาบและชนิดนาโนอิมัลชัน

จากฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของผักบุงทะเลที่สามารถต้านฮีสตามีน ลดการอักเสบได้ และประโยชน์ของนาโนอิมัลชันดังข้อมูลข้างต้น ผู้วิจัยมีความสนใจนำน้ำมัน Damascenone จากใบผักบุงทะเล มาพัฒนาสูตรตำรับในรูปแบบนาโนอิมัลชันสเปรย์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการนำส่งยาผ่านทางผิวหนัง ที่สามารถออกฤทธิ์ในบริเวณที่จำเพาะ และเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านพิษจากแมงกะพรุน รวมทั้งรักษาโรคผิวหนังอื่นๆ เช่น ผิวหนังอักเสบ ผื่นแพ้คัน เป็นต้น และเพื่อเป็นทางเลือกในการใช้ทดแทนยากลุ่มสเตียรอยด์ (steroid) ที่มีผลข้างเคียงต่อผู้ใช้ค่อนข้างมากต่อไป

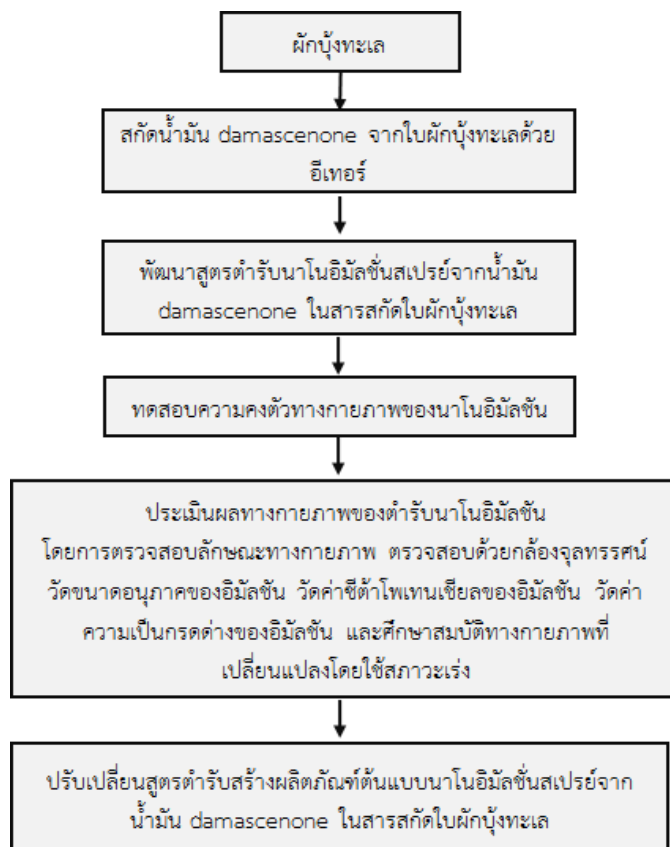
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาเภสัชภัณฑ์ตำรับนาโนอิมัลชันสเปรย์จากน้ำมัน damascenone สกัดจากใบผักบุ้งทะเล
2. เพื่อศึกษาความคงตัวและการประสิทธิผลการนำส่งน้ำมัน damascenone ในการรักษาอาการแพ้ผื่นคันและพิษจากแมงกะพรุน

ขอบเขตการวิจัย

นำผักบุ้งทะเลมาทำการสกัดน้ำมัน damascenone จากใบด้วยอีเทอร์ แล้วทำการพัฒนาสูตรตำรับนาโนอิมัลชันจากน้ำมัน damascenone ที่ได้จากสารสกัดผักบุ้งทะเล จากนั้นทดสอบความคงตัวทางกายภาพของนาโนอิมัลชัน และประเมินผลทางกายภาพของตำรับนาโนอิมัลชัน โดยการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ วัดขนาดอนุภาคของอิมัลชัน วัดค่าซีต้าโพเทนเชียลของอิมัลชัน วัดค่าความเป็นกรดต่างของอิมัลชัน และศึกษาสมบัติทางกายภาพที่เปลี่ยนแปลงโดยใช้สภาวะเร่ง แล้วทำการปรับเปลี่ยนสูตรตำรับศึกษาประสิทธิภาพในการรักษาอาการแพ้ผื่นคันและพิษจากแมงกะพรุน และสร้างผลิตภัณฑ์ต้นแบบนาโนอิมัลชันสเปรย์น้ำมัน damascenone สกัดจากใบผักบุ้งทะเล

กรอบแนวคิด



ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. พัฒนาเภสัชภัณฑ์ตำรับนาโนอิมัลชันสเปรย์จากน้ำมัน damascenone สกัดจากใบผักบุ้งทะเล
2. รวบรวมข้อมูลความคงตัวและการประสิทธิผลการนำส่งน้ำมัน damascenone จากผักบุ้งทะเลในการรักษาอาการแพ้ผื่นคันและพิษจากแมงกะพรุน

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมี

1. น้ำกลั่น (Distilled water)
2. Thin layer chromatography (TLC) (TLC (Merck Millipore))
3. เฮกเซน (Hexane)
4. เมทานอล (Methanol)
5. สารมาตรฐาน β -Damascenone
6. เอทิล อะซิเตท (Ethyl acetate)
7. เอทานอล (Ethanol)
8. สารละลาย Folin-Ciocalteu reagent
9. สารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
10. สารละลาย Sodium nitroprusside (SNP)
11. สารละลาย Griess reagents (sigma)
12. สารละลาย ABTS reagent
13. สารมาตรฐานยูจีนอล (Eugenol)
14. สารมาตรฐานกรดควินิก (3,5-Di-O-caffeoylquinic acid)
15. สารมาตรฐานเคออสทิน (Quercetin) และ ไอโซเคออสทิน (quercetin-3-glucoside)

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. เครื่องไมโครเวฟ (Microwave)
2. เครื่องให้ความถี่สูง (Ultrasonic)
3. เครื่องสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical CO₂)
4. เครื่องสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูง (Pressurized hot water extraction)
5. เครื่องวัดขนาดอนุภาค (Dynamic Light Scattering particle size analyzer (Zetasizer Nano-ZS, Malvern Instrument, Worcestershire, UK))
6. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH meter)

7. เครื่องระเหย (Evaporator)
8. เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze Dried)
9. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง HPLC (Agilent 1260 infinity II LC systems, Agilent Technology, Santa Clara, CA, USA)
10. เครื่องกวนสารละลาย (Magnetic stirrer; IKA R0 10, IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany)
11. กล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลชนิดที่ใช้เลเซอร์ในการสแกน (Confocal laser scanning microscope; Zeiss LSM 800, Carl Zeiss, Jena, Germany)
12. เครื่องอบลมร้อน (Hot air oven; Memmert [UM-500], Germany)
13. เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท (Microplate reader; Thermo, Waltham, MA, USA)
14. ไมโครเพลทเพาะเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม (96-well plate)
15. หลอดเซนติฟิว (Centrifuge Tube)

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมวัตถุดิบผักบั้งทะเล

ทำการเก็บตัวอย่างผักบั้งทะเลจากชายทะเลจังหวัดตราด จากนั้นนำไปผักบั้งทะเล มาทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า และผึ่งให้แห้งแล้วทำการอบในตู้อบระบบลมร้อนสำหรับอบแห้งสมุนไพร ด้วยอุณหภูมิไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส

2.2 การสกัดน้ำมันจากใบผักบั้งทะเล

2.2.1 การสกัดด้วยวิธีการแช่

(1) ใช้ใบผักบั้งทะเลปริมาณ 20 กรัมแช่ในเอทานอล 100% ปริมาตร 200 ml หมักเก็บไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ก่อนจะนำมากรองและทำการระเหยแห้งด้วยเครื่อง evaporator ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสจนเหลือปริมาตรประมาณ 20 ml เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้น

(2) ใช้ใบผักบั้งทะเลปริมาณ 20 กรัมแช่ในเอทานอล 50% ปริมาตร 200 ml หมักเก็บไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ก่อนจะนำมากรองและทำการระเหยแห้งด้วยเครื่อง evaporator ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสจนเหลือปริมาตรประมาณ 20 ml ต่อไป เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้น

2.2.2 การสกัดสารด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวดด้วยสารทำความเย็น (Sub-supercritical fluid extraction)

(1) ใช้ใบผักบุงแห้งจำนวน 208 g เข้าเครื่องสกัด sub-supercritical fluid extraction โดยใช้สารทำความเย็น R134a เป็นตัวทำละลาย โดยให้อุณหภูมิและความดันอยู่เหนือจุดวิกฤต ทำการบรรจุ (Hold) ให้ตัวทำละลายผ่านเข้าไปในตัวอย่างเป็นเวลา 30 นาทีจำนวน 2 ครั้งและปล่อยออก เก็บตัวอย่างจำนวน 1 ตัวอย่าง ทำการเก็บตัวอย่างไว้ภายในเครื่องตลอดทั้งคืน (overnight) และทำการเก็บตัวอย่างอีก จำนวน 1 ตัวอย่าง

(2) ใช้ใบผักบุงสดจำนวน 1,018 กรัม มาปั่นให้ละเอียด นำเข้าเครื่องสกัด sub-supercritical fluid extraction โดยใช้สารทำความเย็น R134a เป็นตัวทำละลาย โดยให้อุณหภูมิและความดันอยู่เหนือจุดวิกฤต ทำการบรรจุ (Hold) ให้ตัวทำละลายผ่านเข้าไปในตัวอย่างเป็นเวลา 60 นาทีจำนวน 3 ครั้ง ทำการปั่นเหวี่ยง ที่ 5000 rpm 3 min สารสกัดที่ได้ทั้งหมด คือ 3.7376 g แยกเป็นสารสกัดส่วนน้ำ 3.4858 g และสารสกัดส่วนน้ำมัน 0.2518 g

(3) ใช้เถาผักบุงสดจำนวน 1,254 กรัม มาปั่นให้ละเอียด นำเข้าเครื่องสกัด sub-supercritical fluid extraction โดยใช้สารทำความเย็น R134a เป็นตัวทำละลาย โดยให้อุณหภูมิและความดันอยู่เหนือจุดวิกฤต ทำการบรรจุ (Hold) ให้ตัวทำละลายผ่านเข้าไปในตัวอย่างเป็นเวลา 60 นาทีจำนวน 3 ครั้ง ทำการปั่นเหวี่ยง ที่ 5000 rpm 3 min สารสกัดที่ได้ทั้งหมด คือ 0.7024 g แยกเป็นสารสกัดส่วนน้ำ 0.6230 g และสารสกัดส่วนน้ำมัน 0.0794 g

2.2.3 การสกัดสารด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ (Sub-supercritical CO₂ extraction)

ใช้ใบผักบุงแห้งจำนวน 40 g ผสมเอทานอล 16 ml ปั่นให้เข้ากันและใส่ลงถุงเพื่อชั่งน้ำหนัก จากนั้นจึงนำเข้าเครื่อง Sub-supercritical CO₂ ประมาณ 3 ชั่วโมง และเก็บสารสกัดจนกว่าจะถึงขั้นตอนวิเคราะห์

2.2.4 การสกัดโดยใช้เครื่อง Microwave

นำใบผักบุงทะเลอบแห้งมาบดให้เป็นผง โดยใช้อัตราส่วน sample และตัวทำละลายเท่ากับ 1 : 40 (ในที่นี้ใช้ตัวทำละลายคือ เอทานอล 50% และ 100%) ทำการสกัดด้วยเครื่อง Microwave กำลังไฟ 100W โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ปรับเปลี่ยนระยะเวลาในการสกัดดังนี้ 15, 30, 35, 40, 45, 60 และ 75 นาที ตามลำดับ จากนั้นนำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง evaporator ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนเหลือปริมาตรประมาณ 20 ml เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้น

2.2.5 การสกัดโดยใช้เครื่อง Ultrasound assisted extraction

ใช้ปริมาณผักบุง 4 g ต่อ solvent 160 mL (ในที่นี้ใช้ตัวทำละลายคือ เอทานอล 50% และ 100%) และนำเข้าเครื่อง Ultrasonic กำลังไฟ 360W และใช้ความถี่ 50/60 kHz โดยปรับเปลี่ยน

ระยะเวลาในการสกัดดังนี้ 30, 45, 60, 90, 120, 150 นาทีตามลำดับ ทำการระเหยแห้งด้วยเครื่อง evaporator ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสจนเหลือปริมาตรประมาณ 20 ml เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้น

2.2.6 การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูง (Pressurized hot water extraction)

ใช้ตัวทำละลายคือ 25% เอทานอล ทำการสกัดโดยการชั่งผักบุง 3 g และผ่านตัวทำละลายด้วยน้ำร้อนความดันสูง (Pressurized hot water extraction) จนกว่าสารสกัดจะไม่มีสีออกมาและนำไปกรองก่อนทำการระเหยแห้งด้วยเครื่อง evaporator ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสจนเหลือปริมาตรประมาณ 20 ml เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้น

2.2.7 การอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer)

ใช้ใบและเถาของผักบุงทะเลจำนวน 6 kg ต้มในน้ำปริมาตร 400 L เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงทำการกรองเพื่อนำกากออกไป โดยจะได้สารสกัดทั้งหมด 400 kg ความเข้มข้น 4% Brix ทำการระเหยแห้งด้วยเครื่อง evaporator จนเหลือประมาณ 60 kg ความเข้มข้น 10% Brix จากนั้นจึงนำสารสกัดทั้งหมดไประเหยแห้งด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer) อุณหภูมิในการนำสารสกัดเข้าเครื่องอยู่ที่ 150 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่ปล่อยสารสกัดออกมาอยู่ที่ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วของการฉีดอยู่ที่ 10,300 รอบต่อนาทีและอัตราการป้อนสารสกัดเข้าเครื่องประมาณ 4 bar สารสกัดที่ได้ในครั้งสุดท้ายจะมีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลเข้ม

2.3 การทดสอบหาปริมาณ Phenolic content

1. ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ Total phenolic compound (ดัดแปลงจาก Miliauskas et al., 2004) โดยเตรียมสารละลาย Folin-ciocalteu 1:10 (v/v) โดยเจือจางสารละลาย 10 มล. ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น - -> ได้สารละลายสีเหลืองใส

2. เตรียมสารละลาย Sodium bicarbonate (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 7.5 % (w/v) โดยเตรียมละลาย Na_2CO_3 7.5 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล. - -> ได้สารละลายสีขาวใส

3. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ความเข้มข้น 0.1 mg/mL (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ในเมทานอล โดยชั่ง Gallic acid 0.1 mg ละลายในเมทานอล 1 mL จากนั้นเจือจาง เพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน (100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

4. เตรียมสารละลายตัวอย่างในเมทานอล ความเข้มข้น 2.0 mg/mL

5. ใช้ Microplate 96 well โดยใส่

A1. น้ำกลั่น เป็น Blank 20 μL

B1 - G1 Gallic acid 20 μL ; 2. Folin-ciocalteu 100 μL ; 3. Na_2CO_3 80 μL

A2 - G2 Samples 20 μ L; 2. Folin-ciocalteu 100 μ L; 3. Na₂CO₃ 80 μ L

6. เขย่าให้สารผสมเข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

7. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 nm. ด้วย Microplate reader

8. หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ($y=mx+c$) ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Gallic acid equivalents, mgGAE/g dried extract)

2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ DPPH assay

1. เตรียมสารละลาย DPPH 0.05 mM (20 μ g/mL) (DPPH 1 mg: MeOH 50 mL)

2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid 0.1 mg/mL (Gallic acid 0.2 mg: MeOH 2 mL) จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 μ g/mL

3. เตรียมสารละลายตัวอย่าง 5mg/mL (สารสกัดตัวอย่าง 20 mg: MeOH 4 mL) จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625 μ g/mL

4. ใช้ Microplate 96 well โดยใส่

Blank of control (H₂O 100 μ L: MeOH 100 μ L)

Control of standard (H₂O 100 μ L: DPPH 100 μ L)

Standard (Gallic acid 100 μ L: DPPH 100 μ L)

Control of samples (MeOH 100 μ L: DPPH 100 μ L)

Samples (Sample 100 μ L: DPPH 100 μ L)

Sample blank (Sample 100 μ L: MeOH 100 μ L)

5. เขย่าให้สารผสมเข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ที่มีดเป็นเวลา 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 nm. ด้วย Microplate reader

6. ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหา % DPPH radical inhibition ด้วยสูตร

$$\% \text{ DPPH radical inhibition} = \{(A-(B-C))/A\} \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ (Control)

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ (Sample)

C คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารทดสอบที่ไม่มีสารละลาย DPPH (Sample blank)

2.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ ABTS assay

1. เตรียมสารละลาย ABTS^{•+} cation radical โดยการผสมสารละลาย 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) หรือ ABTS 7 mM 10 มิลลิลิตร (ละลาย 0.0384 กรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรจนครบ 10 มิลลิลิตร) และ 2.45 mM Potassium persulfate (K₂S₂O₈) (ละลาย K₂S₂O₈ 0.0066 กรัม) ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด 12-16 ชั่วโมง

2. ก่อนการใช้ นำสารละลาย ABTS^{•+} มาเจือจางด้วยเมทานอล (อัตราส่วน 1: 15) ให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.700±0.020 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

3. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Ascorbic acid 0.1 mg/mL (Ascorbic acid 0.5 mg: น้ำกลั่น 5 mL) จากนั้นเจือจาง 2 เท่าให้มีความเข้มข้น 50 - 1.57µg/mL

4. เตรียมสารละลายตัวอย่าง 1 mg/mL (สารสกัดตัวอย่าง 5 mg: MeOH 5 mL) จากนั้นเจือจาง 2 เท่าให้มีความเข้มข้น 200-0.78 µg/mL

5. ใช้ Microplate 96 well โดยใส่

- Blank (MeOH 100 µL)
- Control (MeOH 50 µL: ABTS^{•+} 100 µL)
- Standard (Ascorbic acid 50 µL: ABTS^{•+} 100 µL)
- Samples (Sample 50 µL: ABTS^{•+} 100 µL)
- Sample blank (Sample 50 µL: MeOH 100 µL)

6. เขย่าให้สารผสมเข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 15 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm. ด้วย Microplate reader

7. ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และหา % DPPH radical inhibition ด้วยสูตร

$$\% \text{ ABTS inhibition} = \{(A-(B-C))/A\} \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS^{•+} ที่ไม่มีสารทดสอบ (Control)

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS^{•+} ที่มีสารทดสอบ (Sample)

C คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารทดสอบที่ไม่มีสารละลาย ABTS^{•+} (Sample blank)

2.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการ nitric oxide radical scavenging activity

(1) ละลาย 2 ml sodium nitroprusside (SNP) (10 mM) ผสมกับ 500 μ l phosphate buffer saline (50mM) และผสมกับ 500 μ l ของผักบั้งที่ความเข้มข้นต่างๆ (7.8125, 15.625, 31.25, 62.5, 125, 250, 500 และ 1000 μ g/ml) โดยใช้ quercetin เป็นสารมาตรฐาน (20, 40, 80, 100, 200 μ g/ml)

(2) บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 150 นาที ปิเปตตัวอย่าง 1 ml ผสมกับ Griess reagent 1 ml บ่มเป็นเวลา 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm

2.7 การเพาะเลี้ยงเซลล์ (cell culture)

2.7.1 การวัดปริมาณไนตริกออกไซด์ (Measurement of nitric oxide)

การศึกษานี้ดำเนินการตามการทดลองของ Lueangsakulthai et al., 2017 โดยการบ่มเซลล์ RAW 264.7 ร่วมกับ LPS (100 ng/mL) ควบคู่กับการบ่มร่วมกับสารสกัด 3 ชนิด ได้แก่ Spray dry ใบ (7.8125, 15.625, 31.25, 62.5, 125, and 250 μ g/mL) Spray dry เถา และการแช่ด้วย 50% EtOH (31.25, 62.5, 125, 250, 500, and 1,000 μ g/mL) ที่ 37 องศาเซลเซียส ใน 5% CO₂ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการบ่มร่วมกับสารสกัดปริมาตร 100 μ l ผสมกับ Griess reagent และบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm ความมีชีวิตอยู่ของเซลล์ได้รับการประเมินโดยวิธี MTT assay

2.7.2 ความมีชีวิตรอดของเซลล์ RAW 276.7

ความมีชีวิตรอดของเซลล์ทดสอบโดยวิธี MTT assay โดยการเติมสารละลาย MTT 150 μ l จากสารละลาย MTT ความเข้มข้น 0.5 mg/mL ทำการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ใน 5% CO₂ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังการบ่มให้ทำการเทสารในเพลททิ้งและเติม DMSO ลงไป จากนั้นให้ทำการบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 nm

2.7.3 ความมีชีวิตรอดของเซลล์ Vero cells, HaCaT cells และ NHDF

บ่มเซลล์ Vero cells, HaCaT cells และ NHDF ให้สัมผัสกับสารสกัด 3 ชนิด ได้แก่ Spray dry ใบ (7.8125, 15.625, 31.25, 62.5, 125, and 250 μ g/mL) Spray dry เถา และการแช่ด้วย 50% EtOH (31.25, 62.5, 125, 250, 500, and 1,000 μ g/mL) บ่มข้ามคืนที่ 37 องศาเซลเซียส ใน 5% CO₂ หลัง

การบ่มให้ทำการเทสารในเพลททิ้งและเติม DMSO ลงไป จากนั้นให้ทำการบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 nm

2.8 การพัฒนาสูตรตำรับนาโนอิมัลชัน

การทดลองนี้ได้เลือกใช้สารลดแรงตึงผิวหลัก (Surfactant) และสารลดแรงตึงผิวร่วม (Co-surfactant) ด้วยอัตราส่วนผสมต่างๆ เรียกว่า Smix นำน้ำมัน Damascenone ผสมกับ Smix ที่ได้ ในอัตราส่วน 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3 (ตารางที่ 1) โทเทรทด้วยน้ำกลั่นครั้งละ 200 μ l จำนวน 15 ครั้ง (Shafiq-un-Nabi, 2007) สังเกตการแยกชั้นในแต่ละครั้งที่โทเทรทน้ำลงไปแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน เก็บผลวันที่ 1, 2 และ 3 ดูสีและการแยกชั้นอีกครั้ง

2.9 การทดสอบความคงตัวทางกายภาพ

เลือกสัดส่วนของอิมัลชันที่โทเทรทด้วยน้ำกลั่นจนครบ 3000 μ l และเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วันไม่เกิดการแยกชั้น แล้วจึงนำไปการทดสอบความคงตัวของอิมัลชันด้วยวิธี Centrifugal test โดยการทดสอบความคงตัวด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ 3500 rpm เป็นเวลา 30 นาที ด้วยเครื่อง Centrifugation จากนั้นสังเกตลักษณะที่เกิดขึ้นด้วยสายตา คือ ถ้าไม่เกิดการแยกชั้นแสดงว่าอิมัลชันมีความคงตัว นำอิมัลชันที่ไม่เกิดการแยกชั้นมาทดสอบความคงตัวของอิมัลชันด้วยวิธี Cooling – Heating cycle เพื่อศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่มีผลต่อความคงตัวของอิมัลชัน เก็บตัวอย่างของอิมัลชันไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40 °C ในเวลาที่เท่ากัน ทำการทดลองซ้ำจนครบ 6 รอบ (24 วัน) สังเกตลักษณะที่เกิดขึ้นด้วยสายตา นำอิมัลชันที่ไม่เกิดการแยกชั้นมาทดสอบความคงตัวต่อด้วยวิธี Freezing – Thawing cycle เป็นการศึกษาผลของอุณหภูมิในสภาวะเร่งที่มีผลต่อความคงตัวของอิมัลชัน ทำการแช่แข็งตัวอย่างของอิมัลชันไว้ที่อุณหภูมิ -21 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (2 วัน) จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C ในเวลาที่เท่ากัน ทำการทดลองซ้ำจนครบ 3 รอบ (12 วัน) แล้วทำการสังเกตลักษณะที่เกิดขึ้นด้วยสายตา ถ้าไม่เกิดการแยกชั้นแสดงว่าอิมัลชันมีความคงตัว

2.10 การประเมินผลทางกายภาพของตำรับนาโนอิมัลชัน

(1) การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ โดยการนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm ประมาณ 10 นาที สังเกตลักษณะการเกิดเป็นครีม (creaming) และการแยกชั้น (cracking) และบันทึกผลเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดเป็นครีม และการวัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของอิมัลชัน

(2) การตรวจสอบนาโนอิมัลชันด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Transmission Electron Microscopy (TEM)) โดยทำการเจือจางนาโนอิมัลชันด้วยน้ำกลั่นและกรองผ่านกระดาษกรอง ตัวอย่างจะ

ถูกดูดซับบนตะแกรงทองแดงที่เคลือบด้วยคาร์บอนเป็นเวลา 1 นาที ย้อมด้วยกรด phosphotungstic acid เป็นเวลา 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นจะทำการวัดด้วยกล้อง transmission electron microscope ที่ 100 kV

(3) การวัดค่าซีต้าโพเทนเชียลของอิมัลชัน นำอิมัลชันที่เตรียมปริมาตร 100 ไมโครลิตร เจือจางด้วยน้ำโดยปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร และนำตัวอย่างที่เตรียมปริมาตร 3 มิลลิลิตร ไปวัดค่าซีต้าโพเทนเชียลด้วยเครื่อง zeta potential analyzer โดยทำการวัดจำนวน 30 รอบ

บทที่ 3

ผลการวิจัย

3.1 การสกัดน้ำมันจากใบผักบุ้งทะเล

(1) ทดลองสกัดผักบุ้งทะเลทั้งหมด 19 วิธีการสกัด (ตารางที่ 2) เพื่อศึกษาว่าวิธีใดให้สารสกัดและฤทธิ์ทางชีวภาพดีที่สุด โดยได้ทำการเปรียบเทียบการศึกษาดังตารางที่ 2 ผลการสกัดสารจากผักบุ้งทะเลด้วยวิธีการต่างๆ พบว่า การสกัดด้วยวิธีการพ่นฝอย (spray dry) ส่วนของใบให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด (27.06%) รองลงมา คือ การสกัดด้วยการแช่ในสารละลาย 50% EtOH (18.60%) การสกัดด้วยวิธีการพ่นฝอย (spray dry) ส่วนของเถา (17.12%) การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที (15.33%) การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูงใน 25% EtOH (12.67%) การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคใน 50% EtOH เป็นเวลา 120 นาที (5.50%) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบแห้ง (5.0624%) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ตลอดทั้งคืนในส่วนของใบแห้ง (3.6719%) การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคใน 100% EtOH เป็นเวลา 150 นาที (1.25%) การสกัดด้วยการแช่ในสารละลาย 100% EtOH (0.80%) การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 100% EtOH เป็นเวลา 60 นาที (0.67%) การสกัดด้วยเครื่อง CO₂ (0.4053%) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบสดและเป็นส่วนน้ำ (0.34%) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของเถาสดและเป็นส่วนน้ำมัน (0.05%) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบสดและเป็นส่วนน้ำมัน (0.02%) และการสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของเถาสดและเป็นส่วนน้ำ (0.01%) ตามลำดับ

การเลือกเทคนิคการสกัดที่เหมาะสมมีส่วนสำคัญต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและต้นทุนในการสร้างนวัตกรรม ดังนั้นการเลือกวิธีการสกัดที่มีความเหมาะสมจึงมีความจำเป็นต่อการปรับปรุงผลิตภัณฑ์ในอนาคตเพื่อให้สอดคล้องต่อฤทธิ์ทางชีวภาพและต้นทุนการผลิต โดยในการทดลองนี้พบว่า การสกัดด้วยวิธี Spray dry ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด ใช้เวลาในการสกัดน้อย เป็นวิธีการที่มีประโยชน์มากในการลดขนาดและปริมาตรของของเหลว รองลงมาคือ การสกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอลด้วยการบวกรักษา การสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ ในขณะที่การสกัดด้วยเครื่องให้ความถี่สูงและเครื่องขงกาแพให้ปริมาณสารสกัดใกล้เคียงกัน และการสกัดด้วย R134a, SCO₂ และการสกัดโดยใช้ 100% เอทานอลให้สารสกัดในปริมาณน้อย ตามลำดับ

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

ลำดับ	ส่วนของพืช	วิธีการสกัด	ปริมาณสารสกัด (% Yield)
1	ใบแห้ง	การแช่ใน 50% EtOH	18.60
2	ใบแห้ง	การแช่ใน 100% EtOH	0.80
3	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที	15.33
4	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 100% EtOH เป็นเวลา 60 นาที	0.67
5	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 50% EtOH เป็นเวลา 120 นาที	5.50
6	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 100% EtOH เป็นเวลา 150 นาที	1.25
7	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่อง CO ₂	12.67
8	ใบแห้ง	การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูงใน 25% EtOH	0.4053
9	ใบแห้ง	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a	5.0624
10	ใบแห้ง	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a overnight	3.6719
11	ใบแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	27.06

12	เถาแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	17.12
13	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำ)	0.34
14	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	0.02
15	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน+EtOH)	N/A
16	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำ)	0.01
17	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	0.05
18	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน+EtOH)	N/A

หมายเหตุ N/A = ไม่สามารถวิเคราะห์ได้

(2) ผลการทดสอบปริมาณ Total phenolic ของผักบั้งทะเลพบว่า การสกัดด้วยวิธีการพ่นฝอย (spray dry) ส่วนของใบให้ปริมาณสารฟีนอลิกมากที่สุด คือ 93.65 ± 4.30 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัมของตัวอย่าง รองลงมาคือ การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที (64.26 ± 0.33 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) การสกัดด้วยวิธีการพ่นฝอย (spray dry) ส่วนของเถา (64.03 ± 4.72 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 50% EtOH เป็นเวลา 120 นาที (63.40 ± 0.93 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 100% EtOH เป็นเวลา 60 นาที (51.00 ± 0.07 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูงใน 25% EtOH (32.72 ± 0.11 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) การสกัดด้วยการแช่ในสารละลาย 50% EtOH (30.71 ± 0.04 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบสดและเป็นส่วนน้ำมัน+EtOH (29.89 ± 6.85 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 100% EtOH เป็นเวลา 150 นาที (25.92 ± 0.08 ไมโครกรัม

กรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของเถาสดและเป็นส่วนน้ำมัน (25.47±5.09 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) การสกัดด้วยการแช่ในสารละลาย 100% EtOH (24.55±0.72 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) การสกัดด้วยเครื่อง CO₂ (15.94±0.13 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบแห้ง (13.85±0.07 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของเถาสดและเป็นส่วนน้ำ (11.29±9.83 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ตลอดทั้งคืนในส่วนของใบแห้ง (10.66±0.10 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) และการสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบสดและเป็นส่วนน้ำมัน (4.90±4.89 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อ 1 มิลลิกรัม) (ตารางที่ 3) ตามลำดับ

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบปริมาณ Total phenolic ของผักบุ้งทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

ลำดับ	ส่วนของพืช	วิธีการสกัด	Total phenolic content (mg GAE/g±SD)
1	ใบแห้ง	การแช่ใน 50% EtOH	30.71±0.04 ^d
2	ใบแห้ง	การแช่ใน 100% EtOH	24.55±0.72 ^{f,g}
3	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที	64.26±0.33 ^b
4	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 100% EtOH เป็นเวลา 60 นาที	51.00±0.07 ^c
5	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคใน 50% EtOH เป็นเวลา 120 นาที	63.40±0.93 ^b
6	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคใน 100% EtOH เป็นเวลา 150 นาที	25.92±0.08 ^{e,f}

7	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่อง CO ₂	32.72±0.11 ^h
8	ใบแห้ง	การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูงใน 25% EtOH	15.94±0.13 ^d
9	ใบแห้ง	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a	13.85±0.07 ^{h,i}
10	ใบแห้ง	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a overnight	10.66±0.10 ^{ij}
11	ใบแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	93.65±4.30 ^a
12	เถาแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	64.03±4.72 ^b
13	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำ)	N/A
14	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	4.90±4.89 ^k
15	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน+EtOH)	29.89±6.85 ^{d,e}
16	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำ)	11.29±9.83 ^{h,j}
17	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	25.47±5.09 ^{e,g}
18	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน+EtOH)	N/A

หมายเหตุ N/A = ไม่สามารถวิเคราะห์ได้

ผลลัพธ์แต่ละรายการเป็นค่าเฉลี่ย \pm SD ตัวอักษร (a-k) บ่งบอกถึงความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับแกลลิก

(3) ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของผักบุงทะเล พบว่า การสกัดด้วยการแช่ในสารละลาย 50% EtOH ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมี IC₅₀ เท่ากับ 9.87 ± 2.88 $\mu\text{g/mL}$ รองลงมาคือ การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที (IC₅₀ เท่ากับ 10.39 ± 1.35 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 50% EtOH เป็นเวลา 120 นาที (IC₅₀ เท่ากับ 23.44 ± 4.08 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 100% EtOH เป็นเวลา 60 นาที (IC₅₀ เท่ากับ 26.59 ± 5.16 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยวิธีการพ่นฝอย (spray dry) ส่วนของใบ (IC₅₀ เท่ากับ 32.72 ± 5.05 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยวิธีการพ่นฝอย (spray dry) ส่วนของเถา (IC₅₀ เท่ากับ 35.54 ± 4.19 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูงใน 25% EtOH (IC₅₀ เท่ากับ 55.05 ± 2.06 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 100% EtOH เป็นเวลา 150 นาที (IC₅₀ เท่ากับ 55.26 ± 6.78 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยการแช่ในสารละลาย 100% EtOH (IC₅₀ เท่ากับ 67.92 ± 1.93 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบสดและเป็นส่วนน้ำมัน (IC₅₀ เท่ากับ 158.77 ± 5.07 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยเครื่อง CO₂ (IC₅₀ เท่ากับ 456.27 ± 21.36 $\mu\text{g/mL}$) และการสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของเถาสดและเป็นส่วนน้ำมัน (IC₅₀ เท่ากับ 625.29 ± 26.10 $\mu\text{g/mL}$) (ตารางที่ 4) ตามลำดับ

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของผักบุงทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

ลำดับ	ส่วนของพืช	วิธีการสกัด	DPPH IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) \pm SD
1	STD.	Ascorbic Acid	7.47 ± 0.01
2	ใบแห้ง	การแช่ใน 50% EtOH	$9.87 \pm 2.88^{h,i}$
3	ใบแห้ง	การแช่ใน 100% EtOH	$67.92 \pm 1.93^{d,e}$

4	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลีนไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที	10.39±1.35 ^{h,i}
5	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลีนไมโครเวฟใน 100% EtOH เป็นเวลา 60 นาที	26.59±5.16 ^{g,h}
6	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 50% EtOH เป็นเวลา 120 นาที	23.44±4.08 ^{g,i}
7	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 100% EtOH เป็นเวลา 150 นาที	55.26±6.78 ^{e,f}
8	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่อง CO ₂	55.05±2.06 ^b
9	ใบแห้ง	การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูงใน 25% EtOH	456.27±21.36 ^d
10	ใบแห้ง	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a	N/A
11	ใบแห้ง	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a overnight	N/A
12	ใบแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	32.72±5.05 ^g
13	เถาแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	35.54±4.19 ^{f,g}
14	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำ)	N/A
15	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	158.77±5.07 ^c
16	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน+EtOH)	N/A

17	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำ)	N/A
18	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	625.29±26.10 ^a
19	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน+EtOH)	N/A

หมายเหตุ N/A = ไม่สามารถวิเคราะห์ได้

ผลลัพธ์แต่ละรายการเป็นค่าเฉลี่ย ± SD ตัวอักษร (a-h) บ่งบอกถึงความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับวิตามินซี

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองด้วยวิธี DPPH พบว่า การสกัดด้วยการแช่ในสารละลาย 50% EtOH ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมี IC50 เท่ากับ 9.87±2.88 µg/mL แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี (IC50 เท่ากับ 7.47±0.01 µg/mL)

(4) ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของผักบั้งทะเล พบว่า การสกัดด้วยวิธีการพ่นฝอย (spray dry) ส่วนของใบ ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมี IC50 เท่ากับ 23.61±1.59 µg/mL รองลงมาคือ การสกัดด้วยวิธีการพ่นฝอย (spray dry) ส่วนของเถา (IC50 เท่ากับ 34.77±5.58 µg/mL) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบสดและเป็นส่วนน้ำมัน (IC50 เท่ากับ 87.89±4.84 µg/mL) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของเถาสดและเป็นส่วนน้ำมัน (IC50 เท่ากับ 100.34±33.38 µg/mL) การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูงใน 25% EtOH (IC50 เท่ากับ 186.76±0.91 µg/mL) การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที (IC50 เท่ากับ 189.71±9.08 µg/mL) การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 50% EtOH เป็นเวลา 120 นาที (IC50 เท่ากับ 190.25±4.89 µg/mL) การสกัดด้วยการแช่ในสารละลาย 50% EtOH (IC50 เท่ากับ 205.88±2.79 µg/mL) การสกัดด้วยการแช่ในสารละลาย 100% EtOH (IC50 เท่ากับ 276.76±6.46 µg/mL) (ตารางที่ 5) ตามลำดับ

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของผักบึงทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

ลำดับ	ส่วนของพืช	วิธีการสกัด	ABTS IC ₅₀ (µg/mL) ± SD
1	STD.	Ascorbic Acid	5.23±0.11
2	ใบแห้ง	การแช่ใน 50% EtOH	205.88±2.79 ^c
3	ใบแห้ง	การแช่ใน 100% EtOH	276.76±6.46 ^b
4	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที	189.71±9.08 ^{d,e}
5	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 100% EtOH เป็นเวลา 60 นาที	N/A
6	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 50% EtOH เป็นเวลา 120 นาที	190.25±4.89 ^{c,e}
7	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 100% EtOH เป็นเวลา 150 นาที	N/A
8	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่อง CO ₂	186.76±0.91 ^{c,d}
9	ใบแห้ง	การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูงใน 25% EtOH	N/A
10	ใบแห้ง	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a	N/A

11	ใบแห้ง	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a overnight	N/A
12	ใบแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	23.61±1.59 ^e
13	เถาแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	34.77±5.58 ^e
14	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำ)	N/A
15	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	87.89±4.84 ^e
16	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน+ EtOH)	N/A
17	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำ)	N/A
18	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	100.34±33.38 ^e
19	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน+ EtOH)	973.49±78.72 ^a

หมายเหตุ N/A = ไม่สามารถวิเคราะห์ได้

ผลลัพธ์แต่ละรายการเป็นค่าเฉลี่ย ± SD ตัวอักษร (a-e) บ่งบอกถึงความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับวิตามินซี

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองด้วยวิธี ABTS พบว่า วิธีการพ่นฝอย (spray dry) ส่วนของใบ ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมี IC₅₀ เท่ากับ 23.61±1.59 µg/mL แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี (IC₅₀ เท่ากับ 5.23±0.11 µg/mL)

(5) ผลการทดสอบฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ (nitric oxide radical scavenging activity) ของผักบุ้งทะเล พบว่า การหมักด้วย 50% เอทานอลมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์มากที่สุด (IC₅₀ เท่ากับ 270.30±0.45 µg/mL) รองลงมาคือ การสกัดใบด้วย Spray dry (IC₅₀ เท่ากับ

321.85±0.82 µg/mL) และการสกัดเถาด้วย Spray dry (IC50 เท่ากับ 384.54±0.26 µg/mL) ตามลำดับ โดยสารสกัดอื่นๆ ไม่มีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ของผักบุงทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

ลำดับ	ส่วนของพืช	วิธีการสกัด	Nitric oxide radical IC ₅₀ (µg/mL) ± SD
1	STD.	Ascorbic Acid	5.23±0.11 ^e
2	ใบแห้ง	การแช่ใน 50% EtOH	30.51±0.05 ^b
3	ใบแห้ง	การแช่ใน 100% EtOH	N/A
4	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที	67.78±7.00 ^d
5	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 100% EtOH เป็นเวลา 60 นาที	N/A
6	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 50% EtOH เป็นเวลา 120 นาที	34.59±1.39 ^b
7	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 100% EtOH เป็นเวลา 150 นาที	N/A
8	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่อง CO ₂	155.47±0.65 ^c
9	ใบแห้ง	การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูงใน 25% EtOH	N/A

10	ใบแห้ง	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a	N/A
11	ใบแห้ง	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a overnight	N/A
12	ใบแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	31.98±1.04 ^b
13	เถาแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	371.23±25.82 ^a
14	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำ)	N/A
15	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	N/A
16	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน+EtOH)	N/A
17	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำ)	N/A
18	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	N/A
19	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน+EtOH)	N/A

หมายเหตุ N/A = ไม่สามารถวิเคราะห์ได้

ผลลัพธ์แต่ละรายการเป็นค่าเฉลี่ย ± SD ตัวอักษร (a-e) บ่งบอกถึงความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับวิตามินซี

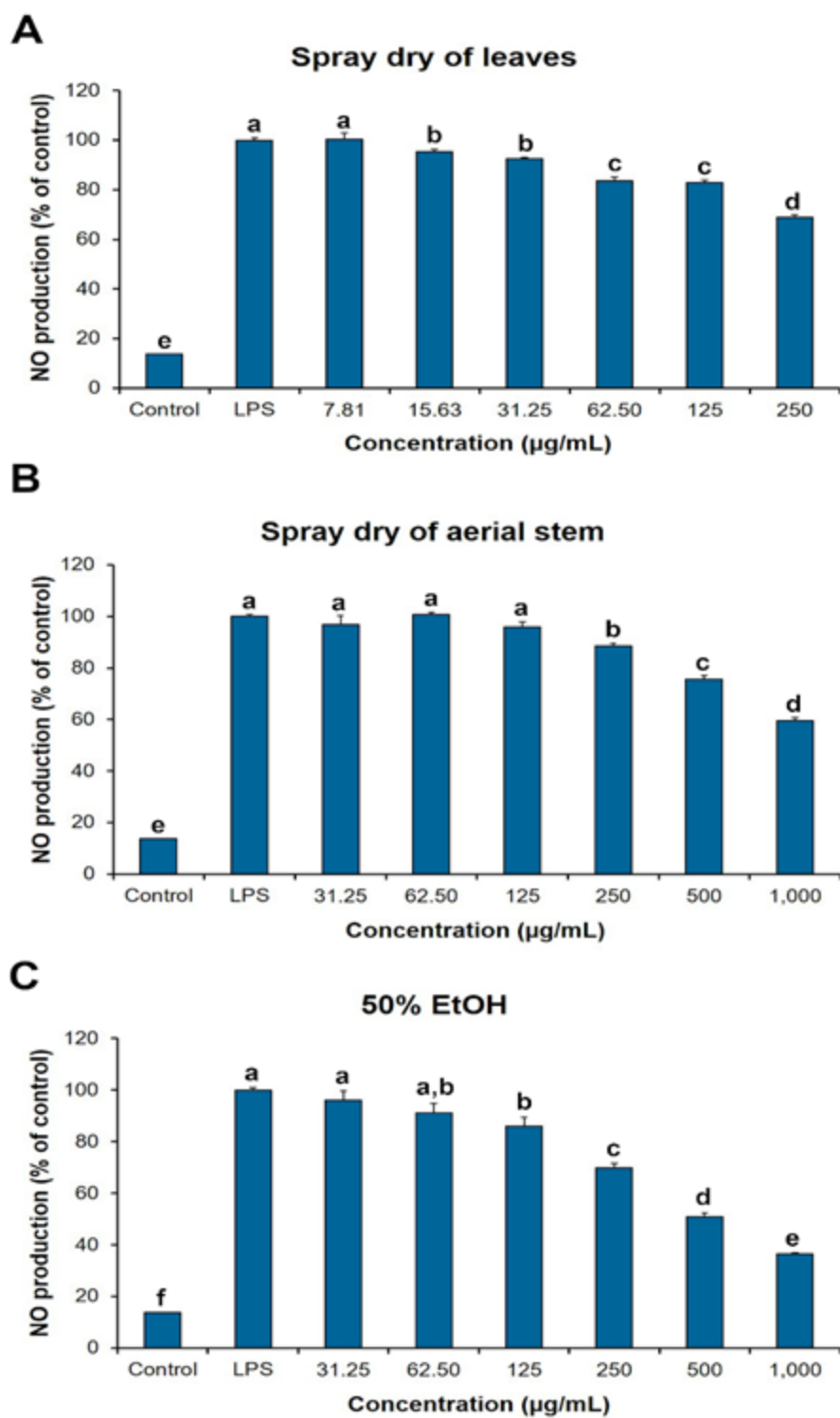
จากการศึกษาฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ พบว่า การหมักด้วย 50% เอทานอลมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์มากที่สุด (IC50 เท่ากับ 270.30±0.45 µg/mL) แต่ยังมีฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ ไนตริกออกไซด์น้อยกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี (IC50 เท่ากับ 94.57±0.15 µg/mL)

ผลการศึกษาวีธีการที่เหมาะสมในการสกัดผักบุงทะเลให้ได้ปริมาณสูงและมีฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า การสกัดด้วยการหมัก 50% เอทานอล การใช้การสกัดด้วยวิธี Spray dry ใบผักบุงทะเลและการ

Spray dry เถาผักบุงทะเล เป็นวิธีการที่ให้ฤทธิ์ทางชีวภาพสูง และได้ปริมาณสารสกัดสูง ซึ่งเหมาะสมต่อการนำไปพัฒนาเป็นสูตรตำรับเพื่อสร้างนวัตกรรมใหม่ในเชิงพาณิชย์ โดยการศึกษานี้ได้เลือกใช้การสกัดด้วยการหมัก 50% เอทานอล ในการตั้งตำรับผลิตภัณฑ์ เนื่องจากเป็นกระบวนการที่ให้ผลผลิตในปริมาณสูง มีฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์สูง ซึ่งมีความเหมาะสมที่สุดในการตั้งตำรับผลิตภัณฑ์นาโนอิมัลชันสเปรย์จากใบผักบุงทะเล

(6) ผลการทดสอบสารสกัดผักบุงทะเลต่อการลดปริมาณไนตริกออกไซด์ในเซลล์ 264.7

หลังการอักเสบของเซลล์ RAW 264.7 ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย LPS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สารสกัดผักบุงทะเลทั้ง 3 ชนิด พบว่า สารสกัดผักบุงทะเลสามารถลดปริมาณไนตริกออกไซด์ได้ตามปริมาณความเข้มข้นของสารสกัด ภาพที่ 18-A สารสกัด Spray dry ใบ สามารถลดปริมาณไนตริกออกไซด์ได้ 4.74 – 30.97% ภาพที่ 18-A สารสกัด Spray dry เถา สามารถลดปริมาณไนตริกออกไซด์ได้ 3.12 – 40.51% ภาพที่ 18-A สารสกัดจากการแช่ด้วย 50% EtOH สามารถลดปริมาณไนตริกออกไซด์ได้ 3.97 – 63.44% การทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการลดไนตริกออกไซด์ของสารสกัดจากการแช่ด้วย 50% EtOH (63.44%) ที่ความเข้มข้นสูงสุด 1000 µg/mL ในขณะที่สารสกัด Spray dry ใบใช้ความเข้มข้นน้อยที่สุดในการลดปริมาณไนตริกออกไซด์ในเซลล์ 264.7



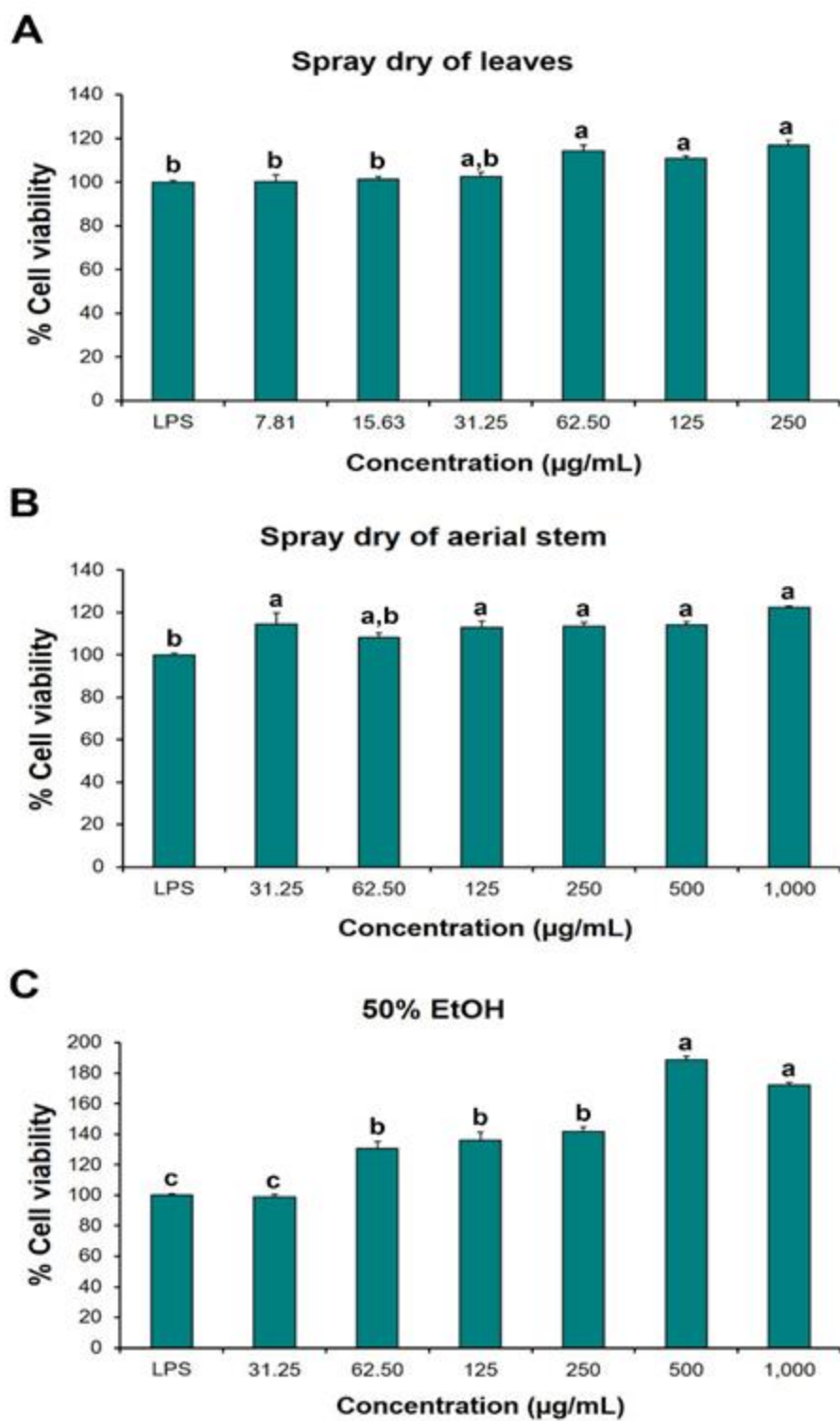
ภาพที่ 18 การยับยั้งไนตริกออกไซด์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย LPS (100 ng/mL) ในเซลล์ RAW 264.7 และได้รับการรักษาด้วยสารสกัดผักบุงทะเล (A) spray dry ใบ (B) spray dry เถา (C) การแช่ใน 50% EtOH

ผลลัพธ์แต่ละรายการถูกแสดงในรูปแบบ mean \pm SD ด้านบนของแต่ละแห่งบ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับการรักษาด้วย LPS เพียงอย่างเดียว

(7) ผลของสารสกัดผักบุ้งทะเลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ 264.7

เพื่อประเมินฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดผักบุ้งทะเลต่อความเป็นพิษของเซลล์ ดังภาพที่ 19 พบว่าสารสกัดผักบุ้งทะเลทั้ง 3 ชนิด ความมีชีวิตรอดของเซลล์แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ของความมีชีวิตรอดของเซลล์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย LPS คิดเป็น 100%

ผลการวิจัย พบว่า สารสกัดผักบุ้งทะเลไม่มีผลต่อการลดลงของการมีชีวิตอยู่ของเซลล์ สารสกัดจาก spray dry ช่วยเพิ่มจำนวนของเซลล์ RAW 264.7 (ภาพที่ 19A-19B) ที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ สารสกัดจากการการแช่ใน 50% EtOH มีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มจำนวนของเซลล์มากที่สุด (188.72%) (ภาพที่ 19C) จากการทดสอบความเป็นพิษที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่แตกต่างกัน พบว่า ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์

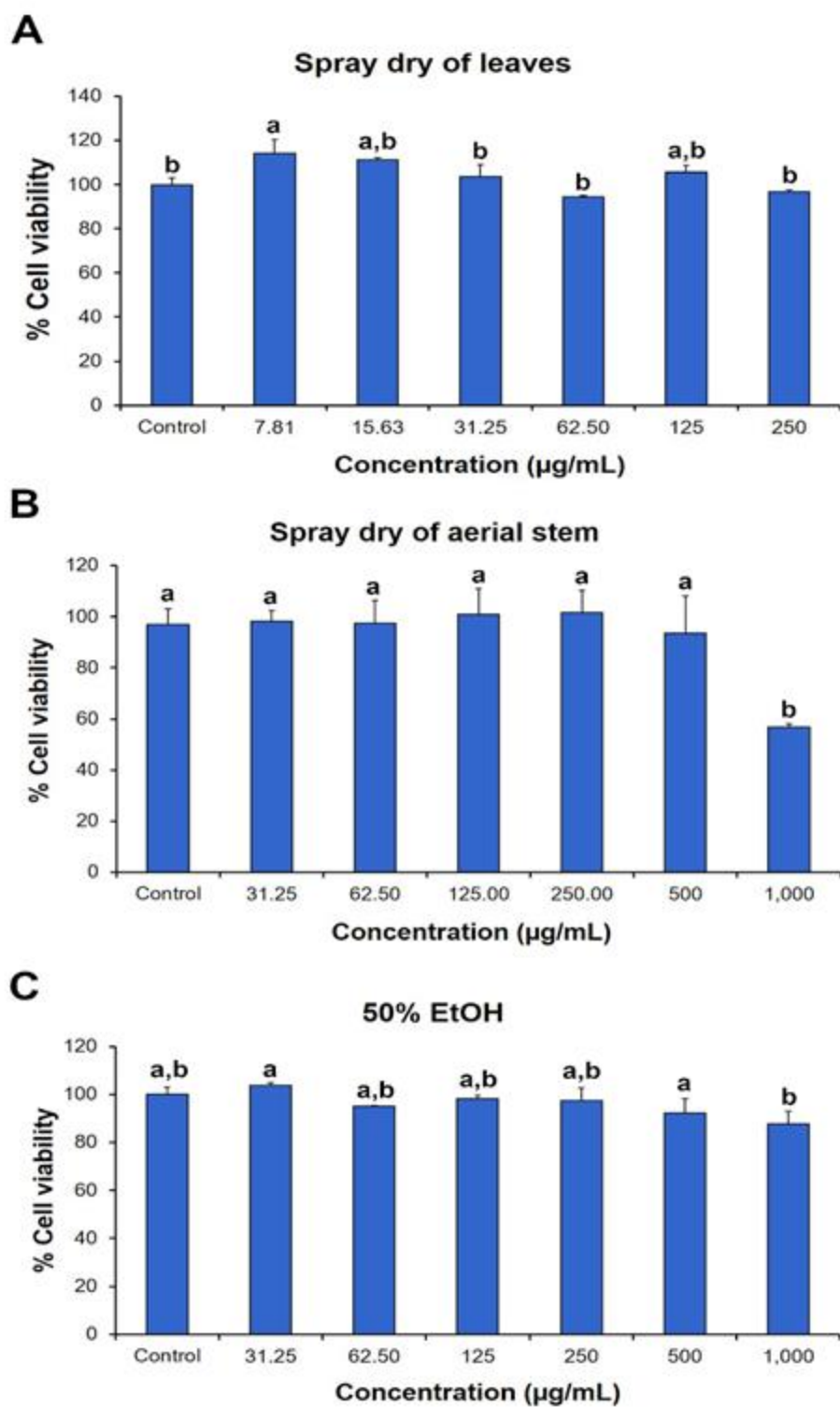


ภาพที่ 19 ความอยู่รอดของเซลล์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย LPS (100 ng/mL) ในเซลล์ RAW 264.7 และได้รับการรักษาด้วยสารสกัดผักบึงทะเล (A) spray dry ใบ (B) spray dry เถา (C) การแช่ใน 50% EtOH

ผลลัพธ์แต่ละรายการถูกแสดงในรูป mean \pm SD ด้านบนของแต่ละแห่งบ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับการรักษาด้วย LPS เพียงอย่างเดียว

(8) ผลของสารสกัดผักบุงทะเลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ Vero

ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัด spray dry ใบ, spray dry เถา และสารสกัดจากการแช่ใน 50% EtOH ด้วยวิธีการทดสอบ ความมีชีวิตของเซลล์แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ของความมีชีวิตเมื่อเทียบกับเซลล์ควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัดซึ่งถือว่ามีชีวิต 100% จากการศึกษา พบว่า สารสกัด spray dry ใบ และสารสกัดจากการแช่ใน 50% EtOH (ภาพที่ 20A, 20C) ไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ Vero ในขณะที่สารสกัด spray dry เถา ไม่มีความเป็นพิษกับเซลล์ Vero ในช่วงความเข้มข้น 31.25 – 500 $\mu\text{g/ml}$ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ พบว่า สารสกัด spray dry เถามีความเป็นพิษต่อเซลล์ (ภาพที่ 20-C)

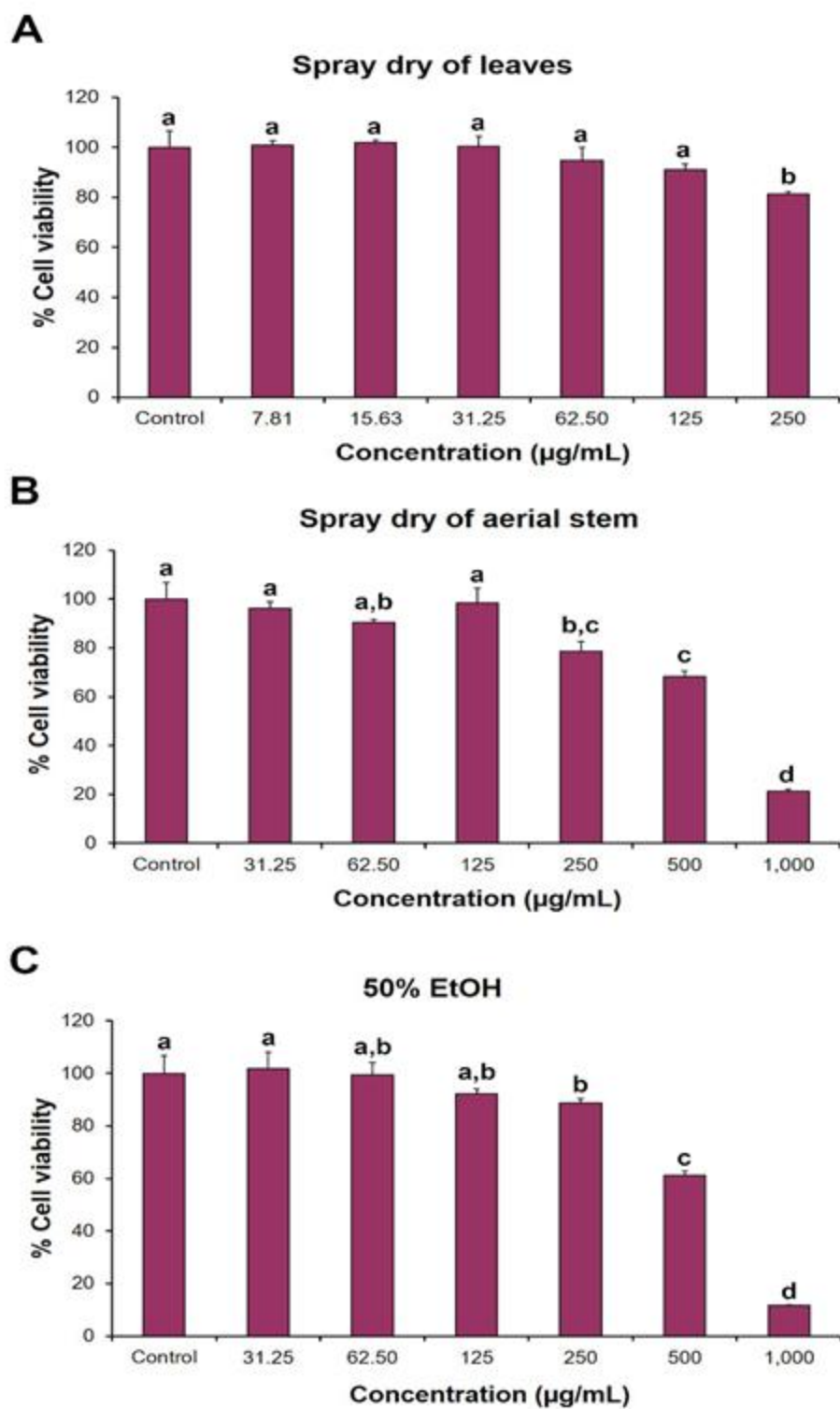


ภาพที่ 20 ผลของสารสกัดผักบุงทะเลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ Vero ที่ถูกบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (A) spray dry ใบ (B) spray dry เถา (C) การแช่ใน 50% EtOH ผลลัพธ์แต่ละรายการจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm

SD ตัวอักษรต่างกัน (a-b) ที่ด้านบนของแต่ละแห่งบ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัด

(9) ผลของสารสกัดผักบุงทะเลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ HaCaT

การประเมินความเป็นพิษของเซลล์ต่อสารสกัดผักบุงทะเลต่อเซลล์ HaCaT ภาพที่ 21A เปอร์เซ็นต์ของความมีชีวิตเมื่อเทียบกับเซลล์ควบคุมที่ไม่ได้รับการสารสกัด พบว่า มีชีวิต 100% ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ ภาพที่ 21B สารสกัด spray dry เถา ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ HaCaT ในช่วงความเข้มข้น 31.25 – 125 $\mu\text{g/ml}$ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 250 – 1,000 $\mu\text{g/ml}$ พบว่า เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดของเซลล์น้อยลง ในทำนองเดียวกัน สารสกัดจากการแช่ด้วย 50% EtOH ที่ความเข้มข้น 15.62 – 125 $\mu\text{g/ml}$ ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ HaCaT ในขณะที่ความเข้มข้น 250 – 1,000 $\mu\text{g/ml}$ ทำให้ความอยู่รอดของเซลล์ HaCaT ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ภาพที่ 21C

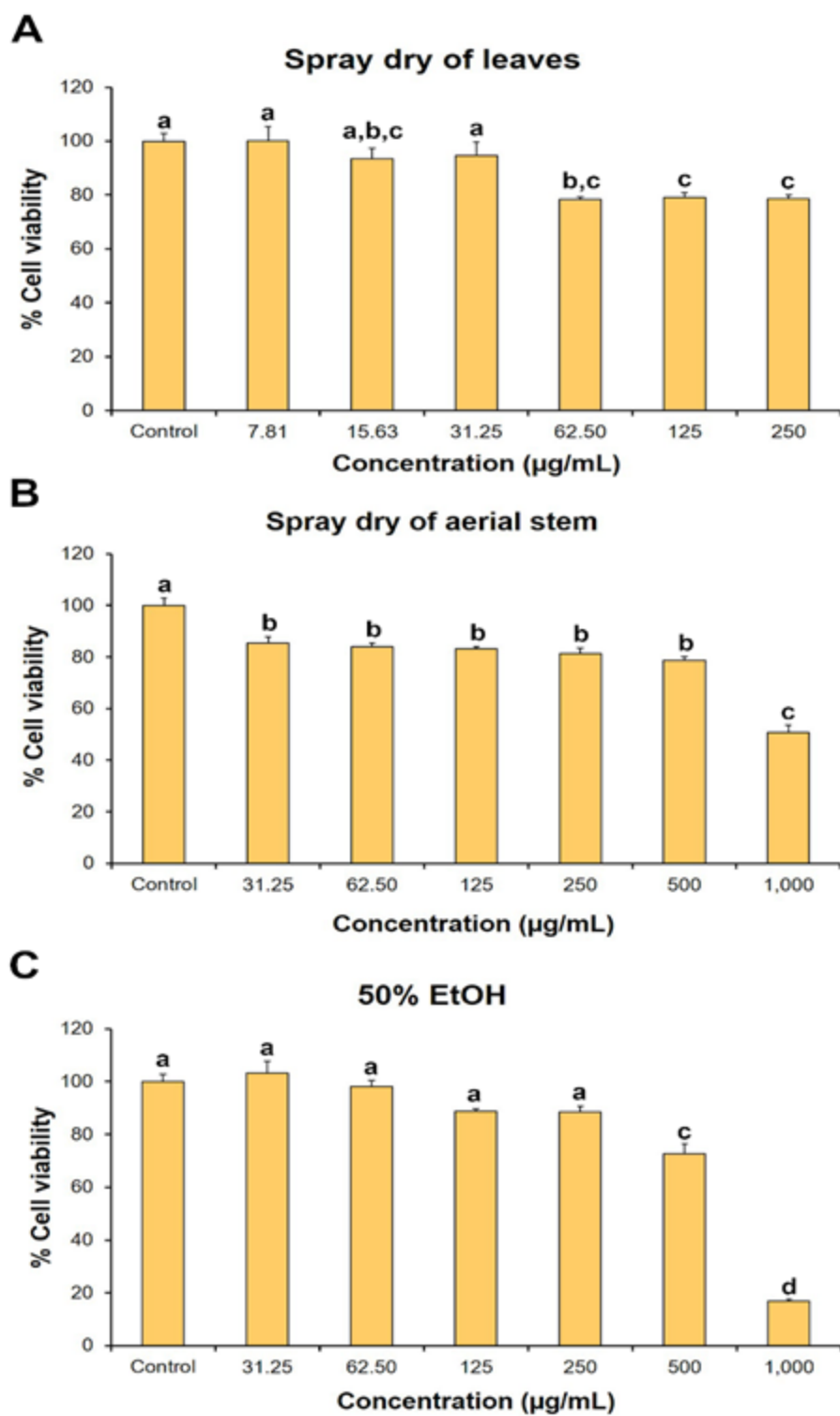


ภาพที่ 21 ผลของสารสกัดผักบุงทะเลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ HaCaT ที่ถูกบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (A) spray dry ใบ (B) spray dry เถา (C) การแช่ใน 50% EtOH ผลลัพธ์แต่ละรายการจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm

SD ตัวอักษรต่างกัน (a-d) ที่ด้านบนของแต่ละแห่งบ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัด

(10) ผลของสารสกัดผักบุงทะเลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ NHDF

การประเมินความเป็นพิษของเซลล์ต่อสารสกัดผักบุงทะเลต่อเซลล์ NHDF ผลการศึกษา พบว่า spray dry ไปไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ NHDF ในช่วงความเข้มข้น 7.81 - 31.25 $\mu\text{g/ml}$ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 62.50 $\mu\text{g/ml}$ พบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์เล็กน้อย (ภาพที่ 22A) ในทำนองเดียวกัน spray dry เถาในช่วงความเข้มข้น 31.25-500 $\mu\text{g/ml}$ มีความเป็นพิษต่อเซลล์เล็กน้อย (ภาพที่ 22B) สำหรับสารสกัดจากการแช่ใน 50% EtOH ที่ความเข้มข้น 31.25-250 $\mu\text{g/ml}$ ไม่มีความเป็นพิษ ในขณะที่ความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ มีความเป็นพิษต่อเซลล์ NHDF



ภาพที่ 22 ผลของสารสกัดผักบุงทะเลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์ HaCaT ที่ถูกบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (A) spray dry ใบ (B) spray dry เถา (C) การแช่ใน 50% EtOH ผลลัพธ์แต่ละรายการจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm

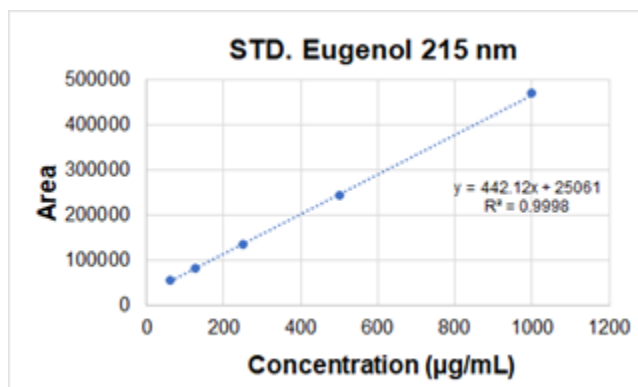
SD ตัวอักษรต่างกัน (a-d) ที่ด้านบนของแต่ละแห่งบ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัด

(6) ผลการทดสอบหาปริมาณสารสำคัญด้วยเครื่องมือ HPLC

การสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลายชนิดแตกต่างกัน ทำให้ได้สารสำคัญแตกต่างกันไปด้วย ดังนั้นการระบุชนิดและปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจึงเป็นส่วนสำคัญในการวิเคราะห์และกำหนดปริมาณการใช้สารสกัดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์รูปแบบใหม่สำหรับใช้ในเชิงพาณิชย์ โดยในการทดลองนี้ได้ทำการวิเคราะห์สารสำคัญทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ ยูจีนอล (eugenol) เควอซีทิน (Quercetin) เควอซีทินทรีกลูโคไซด์ (Quercetin-3-glucoside) เบต้า เดมาซีนอน (β -damascenone) กรดควินิก (3,5-Di-O-caffeoylquinic acid)

- ยูจีนอล (eugenol)

สมการเชิงเส้นของยูจีนอลในช่วงความเข้มข้น 62.5 ถึง 1,000 $\mu\text{g/mL}$ (ภาพที่ 23) สมการเชิงเส้นคือ $y = 442.12x + 25061$ และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9998



ภาพที่ 23 กราฟมาตรฐานของยูจีนอลที่ 215 nm

ปริมาณสารสำคัญยูจีนอลในผักบุ้งทะเลตรวจพบได้จากการสกัดด้วยเครื่อง CO₂ ($102.98 \pm 1.47 \mu\text{g/mL}$) การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry) ในส่วนใบแห้ง ($101.26 \pm 1.45 \mu\text{g/mL}$) การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry) ในส่วนเถาแห้ง ($100.17 \pm 0.38 \mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนใบสด และเป็นส่วนของน้ำมัน ($12.75 \pm 2.67 \mu\text{g/mL}$) และการสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนเถาสด และส่วนของน้ำมัน ($10.84 \pm 0.97 \mu\text{g/mL}$) ดังตารางที่ 7

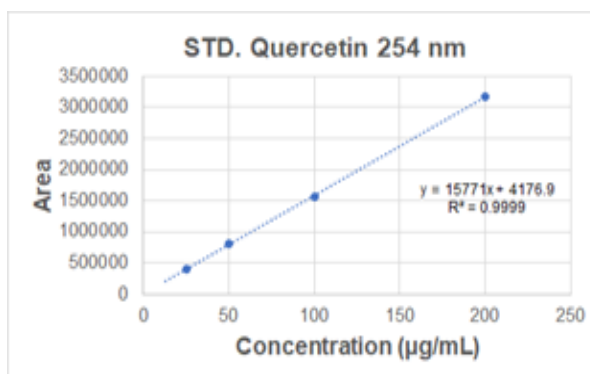
ตารางที่ 7 สารสำคัญยูจีนอลในผักบุ้งทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

ลำดับ	ส่วนของพืช	วิธีการสกัด	Eugenol ($\mu\text{g/mL}$)
1	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่อง CO2	102.98 \pm 1.47 ^a
2	ใบแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	101.26 \pm 1.45 ^a
3	เถาแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	100.17 \pm 0.38 ^a
4	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	12.75 \pm 2.67 ^b
5	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	10.84 \pm 0.97 ^b

หมายเหตุ ผลลัพธ์แต่ละรายการจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm SD ตัวอักษร (a-b) บ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับวิธีการสกัด

- เควอซีทิน (Quercetin)

สมการเชิงเส้นของเควอซีทินในช่วงความเข้มข้น 12.5 ถึง 200 $\mu\text{g/mL}$ (ภาพที่ 24) สมการเชิงเส้นคือ $y = 15771x + 4176.9$ และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9999



ภาพที่ 24 กราฟมาตรฐานของเควอซีทินที่ 254 nm

ปริมาณสารสำคัญเคอควิซินในผักบุงทะเลตรวจพบได้จากการแช่ใน 50% EtOH (8.08 ± 0.60 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยคลีนไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที (1.17 ± 0.18 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry) ในส่วนเถาแห้ง (0.14 ± 0.04 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนใบสดและเป็นส่วนของน้ำมัน (1.79 ± 0.129 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนเถาสดและเป็นส่วนของน้ำมัน (0.39 ± 0.15 $\mu\text{g/mL}$) ดังตารางที่ 8

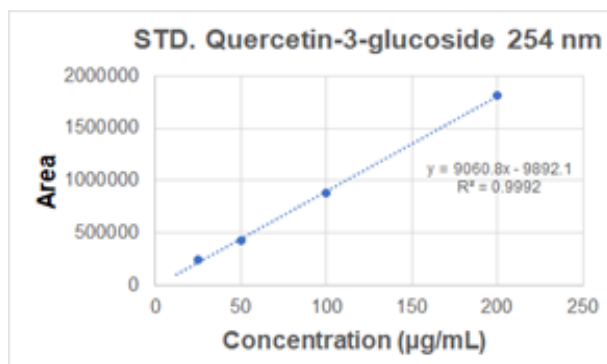
ตารางที่ 8 สารสำคัญเคอควิซินในผักบุงทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

ลำดับ	ส่วนของพืช	วิธีการสกัด	Quercetin ($\mu\text{g/mL}$)
1	ใบแห้ง	การแช่ใน 50% EtOH	8.08 ± 0.60^a
2	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลีนไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที	1.17 ± 0.18^b
3	เถาแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	0.14 ± 0.04^c
4	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	1.79 ± 0.129^b
5	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	0.39 ± 0.15^c

หมายเหตุ ผลลัพธ์แต่ละรายการจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm SD ตัวอักษร (a-c) บ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับวิธีการสกัด

- เคอควิซินทรีกลูโคไซด์ (Quercetin-3-glucoside)

สมการเชิงเส้นของเคอควิซินในช่วงความเข้มข้น 12.5 ถึง 200 $\mu\text{g/mL}$ (ภาพที่ 25) สมการเชิงเส้นคือ $y = 9060.8x - 9892.1$ และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9992



ภาพที่ 25 กราฟมาตรฐานของควอซีทินทรีกลูโคไซด์ที่ 254 nm

ปริมาณสารสำคัญควอซีทินทรีกลูโคไซด์ในผักกาดทะเลตรวจพบได้จากการแช่ใน 50% EtOH (8.08 ± 0.60 µg/mL) การแช่ใน 100% EtOH (10.59 ± 5.50 µg/mL) การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที (19.05 ± 0.41 µg/mL) การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 100% EtOH เป็นเวลา 60 นาที (11.16 ± 4.39 µg/mL) การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 50% EtOH เป็นเวลา 120 นาที (20.44 ± 1.12 µg/mL) การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 100% EtOH เป็นเวลา 150 นาที (10.75 ± 4.20 µg/mL) การสกัดด้วยเครื่อง CO2 (3.83 ± 0.56 µg/mL) การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูงใน 25% EtOH (40.97 ± 3.70 µg/mL) การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry) ในส่วนของใบแห้ง (40.12 ± 0.37 µg/mL) การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry) ในส่วนของเถาแห้ง (54.09 ± 0.94 µg/mL) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบสดและเป็นส่วนของน้ำ (2.48 ± 0.02 µg/mL) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบสดและเป็นส่วนของน้ำมัน (6.08 ± 0.37 µg/mL) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบสดและเป็นส่วนของน้ำมัน+EtOH (3.77 ± 1.65 µg/mL) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของเถาสดและเป็นส่วนของน้ำมัน (7.57 ± 0.40 µg/mL) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของเถาสดและเป็นส่วนของน้ำมัน+EtOH (4.15 ± 1.10 µg/mL) ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 สารสำคัญเคอควิทินทรี่กลูโคไซด์ในผักบุงทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

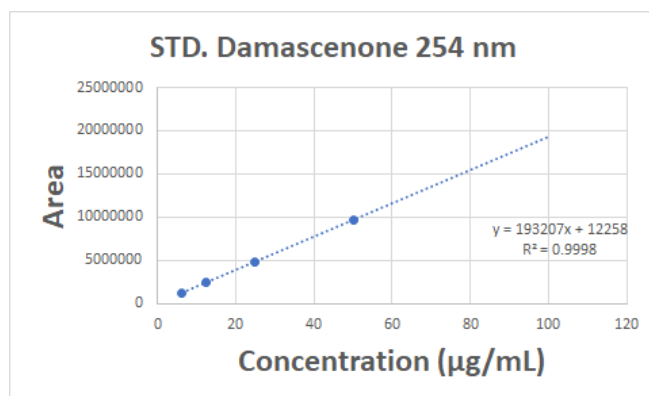
ลำดับ	ส่วนของพืช	วิธีการสกัด	Quercetin-3-glucoside ($\mu\text{g/mL}$)
1	ใบแห้ง	การแช่ใน 50% EtOH	22.87 \pm 1.64 ^c
2	ใบแห้ง	การแช่ใน 100% EtOH	10.59 \pm 5.50 ^d
3	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที	19.05 \pm 0.41 ^c
4	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 100% EtOH เป็นเวลา 60 นาที	11.16 \pm 4.39 ^d
5	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 50% EtOH เป็นเวลา 120 นาที	20.44 \pm 1.12 ^c
6	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 100% EtOH เป็นเวลา 150 นาที	10.75 \pm 4.20 ^d
7	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่อง CO ₂	3.83 \pm 0.56 ^{e,f}
8	ใบแห้ง	การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูงใน 25% EtOH	40.97 \pm 3.70 ^b
9	ใบแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	40.12 \pm 0.37 ^b
10	เถาแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	54.09 \pm 0.94 ^a
11	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วน ของน้ำ)	2.48 \pm 0.02 ^f

12	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	6.08±0.37 ^f
13	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน+EtOH)	3.77±1.65 ^{e,f}
14	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	7.57±0.40 ^{d,e,f}
15	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน+EtOH)	4.15±1.10 ^{e,f}

หมายเหตุ ผลลัพธ์แต่ละรายการจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย± SD ตัวอักษร (a-f) บ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับวิธีการสกัด

- เบต้า เดมาซีนอน (β -damascenone)

สมการเชิงเส้นของเคออสตินในช่วงความเข้มข้น 6.25 ถึง 100 $\mu\text{g/mL}$ (ภาพที่ 26) สมการเชิงเส้นคือ $y = 193207x + 12258$ และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9998



ภาพที่ 26 กราฟมาตรฐานของเบต้า เดมาซีนอนที่ 254 nm

ปริมาณสารสำคัญเคอควิโนนในผักบุงทะเลตรวจพบได้จากการสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบสดและเป็นส่วนของน้ำมัน ($0.0119 \pm 0.0003 \mu\text{g/mL}$) และการสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของเถาสดและเป็นส่วนของน้ำมัน ($0.0448 \pm 0.1029 \mu\text{g/mL}$) ดังตารางที่ 10

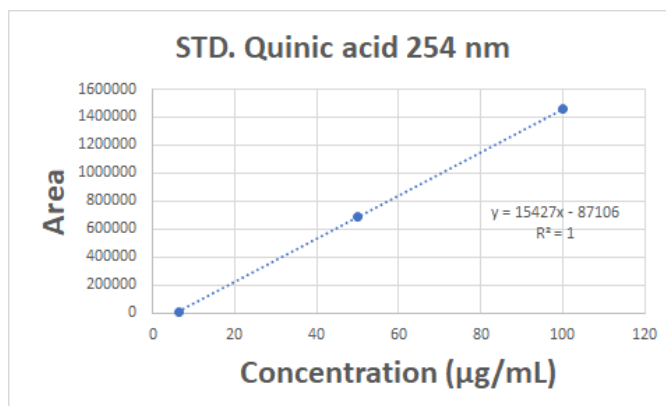
ตารางที่ 10 สารสำคัญเบต้า เดมาซีโนนในผักบุงทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

ลำดับ	ส่วนของพืช	วิธีการสกัด	β -damascenone ($\mu\text{g/mL}$)
1	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	0.0119 ± 0.0003^b
2	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	0.0448 ± 0.1029^a

หมายเหตุ ผลลัพธ์แต่ละรายการจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm SD ตัวอักษร (a-b) บ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับวิธีการสกัด

- กรดควินิก (3,5-Di-O-caffeoylquinic acid)

สมการเชิงเส้นของเคอควิโนนในช่วงความเข้มข้น 6.25 ถึง $100 \mu\text{g/mL}$ (ภาพที่ 27) สมการเชิงเส้นคือ $y = 15427x - 87106$ และมีค่า R^2 เท่ากับ 1



ภาพที่ 27 กราฟมาตรฐานของกรดควินิกที่ 254 nm

ปริมาณสารสำคัญเคอควินทริกลูโคไซด์ในผักบุงทะเลตรวจพบได้จากการแช่ใน 50% EtOH (34.40 ± 1.83 $\mu\text{g/mL}$) การแช่ใน 100% EtOH (6.82 ± 1.66 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที (16.75 ± 0.60 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 100% EtOH เป็นเวลา 60 นาที (6.76 ± 1.57 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 50% EtOH เป็นเวลา 120 นาที (16.38 ± 1.39 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 100% EtOH เป็นเวลา 150 นาที (6.66 ± 1.43 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยเครื่อง CO₂ (7.16 ± 2.15 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูงใน 25% EtOH (27.10 ± 3.67 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry) ในส่วนของใบแห้ง (28.61 ± 1.39 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry) ในส่วนของเถาแห้ง (20.59 ± 0.91 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบสดและเป็นส่วนของน้ำ (8.12 ± 0.07 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบสดและเป็นส่วนของน้ำมัน (16.90 ± 0.82 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของใบสดและเป็นส่วนของน้ำมัน+EtOH (7.25 ± 0.69 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของเถาสดและเป็นส่วนของน้ำ (6.33 ± 0.02 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของเถาสดและเป็นส่วนของน้ำมัน (29.63 ± 1.30 $\mu\text{g/mL}$) การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a ในส่วนของเถาสดและเป็นส่วนของน้ำมัน+EtOH (9.41 ± 0.32 $\mu\text{g/mL}$) ดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 สารสำคัญกรควินิกในผักบุงทะเลด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

ลำดับ	ส่วนของพืช	วิธีการสกัด	Quinic acid ($\mu\text{g/mL}$)
1	ใบแห้ง	การแช่ใน 50% EtOH	34.40 ± 1.83^a
2	ใบแห้ง	การแช่ใน 100% EtOH	$6.82 \pm 1.66^{e,h}$
3	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 50% EtOH เป็นเวลา 5 นาที	16.75 ± 0.60^d
4	ใบแห้ง	การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟใน 100% EtOH เป็นเวลา 60 นาที	$6.76 \pm 1.57^{f,g,h,i}$

5	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 50% EtOH เป็นเวลา 120 นาที	16.38±1.39 ^d
6	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกใน 100% EtOH เป็นเวลา 150 นาที	6.66±1.43 ^{e,i}
7	ใบแห้ง	การสกัดด้วยเครื่อง CO ₂	7.16±2.15 ^{e,s}
8	ใบแห้ง	การสกัดด้วยน้ำร้อนความดันสูงใน 25% EtOH	27.10±3.67 ^b
9	ใบแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	28.61±1.39 ^b
10	เถาแห้ง	การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry)	20.59±0.91 ^c
11	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำ)	8.12±0.07 ^{e,f}
12	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	16.90±0.82 ^d
13	ใบสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน+EtOH)	7.25±0.69 ^{e,f}
14	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำ)	6.33±0.02 ^{f,g,h,i}
15	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน)	29.63±1.30 ^b
16	เถาสด	การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน+EtOH)	9.41±0.32 ^e

หมายเหตุ ผลลัพธ์แต่ละรายการจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย± SD ตัวอักษร (a-i) บ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05) เมื่อเทียบกับวิธีการสกัด

3.2 การเตรียมนาโนอิมัลชันที่กักเก็บสารสำคัญของผักบุงทะเล

(1) การเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวหลัก (Surfactant) และสารลดแรงตึงผิวร่วม (Co-surfactant)

การทดลองนี้ได้เลือกใช้สารลดแรงตึงผิวหลัก (Surfactant) และสารลดแรงตึงผิวร่วม (Co-surfactant) ด้วยอัตราส่วนผสมต่างๆ เรียกว่า Smix นำสารสกัดจากใบผักบุงทะเลผสมกับเฟสน้ำมันที่เหมาะสม (สารลดแรงตึงผิวหลัก) จากนั้นจึงผสมกับ สารลดแรงตึงผิวร่วม เพื่อให้ได้ค่า Smix ที่เหมาะสมในการก่อให้เกิดนาโนอิมัลชัน ในที่นี้ได้ทดสอบในส่วนของ Tween20 และ Tween60 เป็นสารลดแรงตึงผิวหลักในการผลิตนาโนอิมัลชันสเปรย์ และใช้ propylene glycol เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม สารลดแรงตึงผิวทั้งสามตัวเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีความหนืดและความเหนียวน้อย ทำให้นาโนอิมัลชันสเปรย์ไม่หนืดมากเกินไป เหมาะแก่การนำมาผลิตนาโนอิมัลชันสเปรย์ผักบุงทะเล

(2) การพัฒนาสูตรนาโนอิมัลชัน

จากการพัฒนาสูตรตำรับนาโนอิมัลชันสเปรย์ ทั้งหมด 5 สูตร โดยได้เลือกจากวิธีการสกัด 2 วิธี คือ การสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry) ในส่วนของใบแห้ง และการสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน) โดยใช้ส่วนของเถาสุด เนื่องจากวิธีการสกัดแบบพ่นฝอย (Spray dry) เป็นวิธีที่ให้ปริมาณสารสกัดสูง มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงและมีสารสำคัญจำนวนมาก เหมาะแก่การลงทุนสร้างเป็นนวัตกรรมใหม่ในภาคอุตสาหกรรม ในขณะที่การสกัดด้วยสารทำความเย็น R134a มีปริมาณสารสำคัญ dasmascenone ซึ่งมีฤทธิ์ในการแก้พิษแมงกระพรุน จึงได้ใช้สารสกัดทั้งสองส่วนในการพัฒนาสูตรตำรับนาโนอิมัลชัน เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีประสิทธิภาพสูงในการต้านการอักเสบและรักษาพิษจากแมงกระพรุน และเป็นการส่งเสริมให้เกิดเป็นนวัตกรรมของชุมชนชายฝั่งภาคตะวันออกสำหรับใช้ในการผลิตในเชิงพาณิชย์ต่อไป (ตารางที่12)

ตารางที่ 12 องค์ประกอบสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเล

Materials		Composition of nanoemulsion (%-w/w)				
		1	2	3	4	5
Water phase	- Polyvinylpyrrolidone K90 (PVP K90)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	- 100% Ethanol	35	35	20	20	20
	- H ₂ O	57	57	71	71	71
	- Citric acid	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Oil phase	- Beta-dasmascenone	1	1	1	1	1
	- Eugenol	-	-	1	1	1
	- Menthol	1	1	1	1	1
	- Ethylhexyl glycine + Phenoxy ethanol (PEHG)	1	1	1	1	1
	- Propylene glycol	2	2	2	2	2
	- Triethanolamine	2 หยด	2 หยด	2 หยด	2 หยด	2 หยด
	- สารสกัดว่านหางจระเข้	1	1	1	1	1
	- สารสกัดใบบัวบก	1	1	1	1	1
	- สารสกัดผักบุ้งทะเลจากการสกัดด้วย Spray dry ในส่วนของใบ	250 µg	250 µg	-	-	250 µg
	- สารสกัดผักบุ้งทะเลจากการสกัดด้วย R134a ในส่วนของเถาสด	-	-	-	-	250 µg
Surfactant phase	- Tween 20	-	3 หยด	-	3หยด	-
	- Tween 60	3 หยด	-	3หยด	-	3 หยด

(3) สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเล

- สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 1 (ภาพที่ 28) เป็นสูตรที่ใช้ Tween60 เป็นสารลดแรงตึงผิวหลัก ตำรับที่ได้มีลักษณะใส มีสีน้ำตาลอ่อน แต่สารสกัดผักบุ้งทะเลที่ใส่ลงไป ในสูตรตำรับละลายไม่หมด ทำให้สีของสูตรตำรับมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลอ่อน มีการแยกชั้นเล็กน้อย เมื่อวางไว้ในอุณหภูมิห้อง เนื้อสัมผัสมีความมันเล็กน้อย แต่มีความเหนียว ซึมเข้าสู่ผิวหนังช้า มีความรู้สึกเย็นเมื่อสัมผัสอยู่บนผิวหนัง และมีกลิ่นหอมอ่อนๆของเมนทอล



ภาพที่ 28 สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 1

- สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 2 (ภาพที่ 29) เป็นสูตรที่ใช้ Tween20 เป็นสารลดแรงตึงผิวหลัก เพื่อลดความมันของตำรับนาโนอิมัลชัน แต่พบว่าการเปลี่ยนมาใช้ Tween20 ทำให้สูตรตำรับเกิดการแยกชั้นมากกว่าสูตรที่ 1 Tween20 จึงเป็นสารลดแรงตึงผิวที่อาจจะไม่เหมาะต่อการพัฒนาสูตรตำรับนาโนอิมัลชัน ตำรับที่ได้มีลักษณะใส มีสีน้ำตาลอ่อน แต่สารสกัดผักบุ้งทะเลที่ใส่ลงไป ในสูตรตำรับละลายไม่หมดเช่นเดียวกับสูตร 1 ทำให้สีของสูตรตำรับมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลอ่อน มีการแยกชั้นเมื่อวางไว้ในอุณหภูมิห้อง เนื้อสัมผัสมีความมันเล็กน้อย มีความเหนียวน้อยกว่าสูตรที่ 1 มีความรู้สึกเย็นเมื่อสัมผัสอยู่บนผิวหนัง และมีกลิ่นหอมอ่อนๆของเมนทอล



ภาพที่ 29 สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 2

- สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 3 (ภาพที่ 30) เป็นสูตรที่ใช้ Tween60 เป็นสารลดแรงตึงผิวหลัก และยังไม่มีการเติมสารสกัดผักบุ้งทะเลลงไปเพื่อศึกษาความคงตัวของสูตรตำรับนาโนอิมัลชัน แต่ได้มีการปรับปรุงสูตรตำรับเนื่องจากปริมาณเอทานอลที่ใช้เกินกว่าปริมาณที่องค์การอาหารและยากำหนด แต่เมื่อลดปริมาณสารละลายเอทานอลให้น้อยลง ส่งผลให้ผลึกเมนทอลที่ละลายในเอทานอลเป็นสีขาวขุ่น ส่งผลให้สูตรตำรับที่ 3 มีลักษณะเป็นสีขาว มีความขุ่น เนื่องจากเมนทอลต้องละลายในสารละลายเมทานอล แต่ปริมาณของเอทานอลไม่เพียงพอที่จะทำให้เมนทอลใสขึ้นเหมือนสูตร 1 และ 2 ประกอบกับสูตรตำรับนาโนอิมัลชันเติมไปด้วยส่วนประกอบในเฟสน้ำมัน ทำให้มีความเป็นขี้วุ้นต่ำ เมื่อลดปริมาณเอทานอลจึงเป็นสาเหตุให้สูตรตำรับที่มีการปรับปรุงสูตรมีความขุ่นขาว มีความมันเล็กน้อย และมีกลิ่นหอมอ่อนๆของเมนทอล



ภาพที่ 30 สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 3

- สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 4 (ภาพที่ 31) เป็นสูตรที่ใช้ Tween20 เป็นสารลดแรงตึงผิวหลัก พบว่าสูตรตำรับนี้มีความขาวขุ่นเช่นเดียวกับสูตรตำรับที่ 3 เนื่องจากการลดปริมาณสารละลายเอทานอลมีผลโดยตรงต่อความใสและความขุ่นของสูตรตำรับ สูตรตำรับที่ 4 มีการแยกชั้น มีกลิ่นหอมของเมนทอล การทดลองใช้ Tween20 อาจไม่เหมาะสมในการพัฒนาสูตรตำรับ



ภาพที่ 31 สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 4

- สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 5 (ภาพที่ 32) เป็นสูตรที่ใช้ Tween60 ในการพัฒนาสูตรตำรับในครั้งนี้เลือกใช้ Tween60 เนื่องจากการทดสอบที่ผ่านมาพบว่าเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ดีที่สุดในการพัฒนาสูตรตำรับนาโนอิมัลชัน โดยได้มีการละลายเมนทอลในเอทานอลก่อนเทลงไปรวมกับเฟสน้ำ ทำให้สูตรตำรับที่ 5 มีความใสมากขึ้น แต่ยังมีน้อยกว่าสูตร 1 เนื่องจากมีความ

เป็นขี้ตัวดำ นอกจากนี้ยังได้มีการละลายสารสกัดผักบุงทะเล (สารสกัดผักบุงทะเลจากการสกัดด้วย Spray dry ในส่วนของใบ และสารสกัดผักบุงทะเลจากการสกัดด้วย R134a ในส่วนของเถาสด) ในเฟสน้ำมันให้ละลายทั้งหมดก่อนเทรวมกับเฟสน้ำเพื่อให้มีความเข้มข้น 250 $\mu\text{g/ml}$ ทำให้สูตรตำรับมีสีน้ำเข้มกว่าสูตรตำรับที่ 1



ภาพที่ 32 สูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุงทะเลสูตรที่ 5

3.3 การทดสอบความคงตัวทางกายภาพ

ประเมินลักษณะทางกายภาพของสูตรตำรับนาโนอิมัลชัน ได้แก่ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส ของสูตรตำรับทั้งหมด 5 สูตรหลังทำการตั้งสูตรตำรับ ดังตารางที่ 13 จากตารางพบว่า สูตรที่ 5 ซึ่งทำการปรับปรุงขึ้นใหม่มีความคงตัวที่ดี ปริมาณสารละลายเอทานอลอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน เนื้อสัมผัสค่อนข้างดี มีความมันและความเหนียวเล็กน้อย ไม่ระคายเคืองผิว มีกลิ่นหอมของเมนทอล มีการแยกชั้นระหว่างชั้นน้ำและชั้นน้ำมันเล็กน้อยเมื่อทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง นอกจากนี้ค่าความเป็นกรดเบส (pH) ของสูตรตำรับทั้งหมดมีค่าไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 13 ลักษณะทางกายภาพของตำรับนาโนอิมัลชัน

สูตร	สี	กลิ่น	ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)	เนื้อสัมผัส
1	สีน้ำตาลอ่อน	หอมกลิ่นของเมนทอล	4.58±0.03	เป็นของเหลวใส ซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ง่าย แต่มีความมันและเหนียวเล็กน้อย สารสกัดผักบุ้งทะเลละลายไม่หมด มีกลิ่นหอมเล็กน้อย และมีการแยกชั้นเล็กน้อยเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง
2	สีน้ำตาลอ่อน	หอมกลิ่นของเมนทอล	4.53±0.11	เป็นของเหลวใส ซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ง่าย ความมันน้อยลงและเหนียวน้อยกว่าสูตรที่ 1 สารสกัดผักบุ้งทะเลละลายไม่หมด มีกลิ่นหอมเล็กน้อย แต่มีการแยกชั้นเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง
3	สีขาวขุ่น	หอมกลิ่นของเมนทอล	4.49±0.12	เป็นของเหลวขาวขุ่นเหมือนน้ำนม ซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดีแต่ใช้เวลามากขึ้น มีความมันและเหนียวเล็กน้อย มีกลิ่นหอมเล็กน้อย และมีการแยกชั้นเล็กน้อยเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง
4	สีขาวขุ่น	หอมกลิ่นของเมนทอล	4.51±0.03	เป็นของเหลวขาวขุ่นเหมือนน้ำนม ซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดีแต่ใช้เวลามากขึ้น มีความมันและเหนียวน้อยกว่าการใช้ Tween60 มีกลิ่นหอมเล็กน้อย และมีการแยกชั้นเล็กน้อยเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง
5	สีน้ำตาล	หอมกลิ่นของเมนทอล	4.55±0.06	เป็นของเหลวสีน้ำตาล มีความขุ่นเนื่องจากการลดปริมาณเอทานอล ซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดี มีความมันและเหนียวเล็กน้อย มีกลิ่นหอมเล็กน้อย และมีการแยกชั้นเล็กน้อยเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

3.4 การวัดขนาดอนุภาคของอิมัลชันและการวัดค่าซีต้าโพเทนเชียลของอิมัลชัน

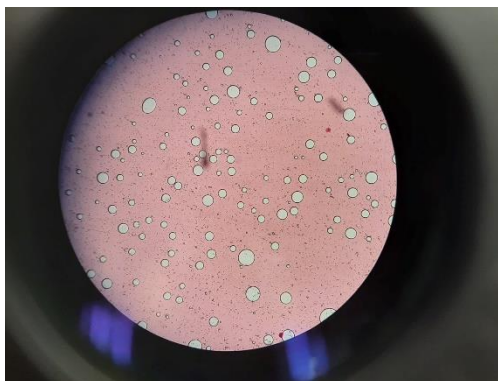
(1) การตรวจสอบอนุภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์

- ตำรับนาโนอิมัลชันสเปรย์สูตรที่ 1 หลังทำการย้อมสีด้วยสีอะมาแลน (amalane colour) เพื่อให้เห็นขนาดของอนุภาคที่ชัดเจนขึ้นก่อนการส่องกล้องเพื่อดูขนาดด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า สูตรตำรับเกิดเป็นอิมัลชันตามที่ต้องการ แต่มีขนาดอนุภาคค่อนข้างใหญ่ และอนุภาคยังไม่มีควมสม่ำเสมอ (ภาพที่ 33)



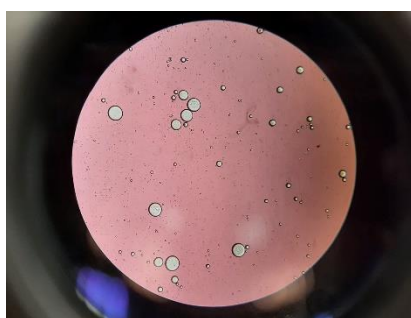
ภาพที่ 33 ขนาดอนุภาคอิมัลชันของสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 1

- ตำรับนาโนอิมัลชันสเปรย์สูตรที่ 2 หลังทำการย้อมสีด้วยสีอะมาแลน (amalane colour) เพื่อให้เห็นขนาดของอนุภาคที่ชัดเจนขึ้นก่อนการส่องกล้องเพื่อดูขนาดด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า สูตรตำรับเกิดเป็นอิมัลชันตามที่ต้องการ แต่มีขนาดอนุภาคค่อนข้างใหญ่ และอนุภาคยังไม่มีควมสม่ำเสมอเช่นเดียวกับสูตรที่ 1 (ภาพที่ 34)



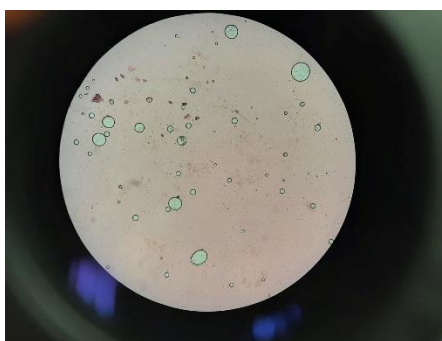
ภาพที่ 34 ขนาดอนุภาคอิมัลชันของสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 2

- ตำรับนาโนอิมัลชันสเปรย์สูตรที่ 3 หลังทำการย้อมสีด้วยสีอะมาแลน (amalane colour) เพื่อให้เห็นขนาดของอนุภาคที่ชัดเจนขึ้นก่อนการส่องกล้องเพื่อดูขนาดด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า สูตรตำรับเกิดเป็นอิมัลชันตามที่ต้องการ มีขนาดอนุภาคเล็กและใหญ่ค่อนข้างกระจายตัว แต่มีขนาดอนุภาคเล็กมากกว่าสูตรที่ 1 และ 2 อาจเนื่องมาจากการใช้ระยะเวลาการทำสเปรย์มากกว่าสูตร 1 และ 2 เพื่อแก้ปัญหาคความขุ่นของสูตรตำรับ (ภาพที่ 35)



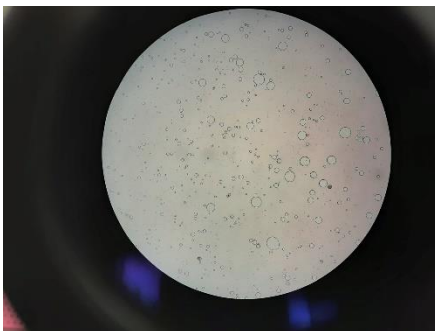
ภาพที่ 35 ขนาดอนุภาคอิมัลชันของสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 3

- ตำรับนาโนอิมัลชันสเปรย์สูตรที่ 4 หลังทำการย้อมสีด้วยสีอะมาแลน (amalane colour) เพื่อให้เห็นขนาดของอนุภาคที่ชัดเจนขึ้นก่อนการส่องกล้องเพื่อดูขนาดด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า สูตรตำรับเกิดเป็นอิมัลชันตามที่ต้องการ มีขนาดอนุภาคเล็กและใหญ่ค่อนข้างกระจายตัว เช่นเดียวกับสูตรที่ 3 (ภาพที่ 36)



ภาพที่ 36 ขนาดอนุภาคอิมัลชันของสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 4

- ตำรับนาโนอิมัลชันสเปรย์สูตรที่ 5 หลังทำการย้อมสีด้วยสีอะมาแลน (amalan colour) เพื่อให้เห็นขนาดของอนุภาคที่ชัดเจนขึ้นก่อนการส่องกล้องเพื่อดูขนาดด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า สูตรตำรับเกิดเป็นอิมัลชันตามที่ต้องการ มีขนาดอนุภาคเล็กและใหญ่ค่อนข้างกระจายตัวดี (ภาพที่ 37)



ภาพที่ 37 ขนาดอนุภาคอิมัลชันของสูตรตำรับนาโนอิมัลชันของสารสกัดใบผักบุ้งทะเลสูตรที่ 5

(2) การวัดขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง Zeta potential

จากการทดสอบวัดขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง Zeta potential พบว่า ขนาดอนุภาคจากสูตรตำรับทั้ง 5 สูตรยังมีขนาดค่อนข้างใหญ่ ซึ่งเป็นช่วงของไมโครอิมัลชันและมีค่าใกล้เคียงกัน โดยค่า Z-Ave (nm) คือ ขนาดของอนุภาค ค่า Polydispersity index (PDI) คือ ค่าการกระจายตัวของพอลิเมอร์ และค่า Zeta potential คือ ความแตกต่างของประจุไฟฟ้าระหว่างชั้นความหนาแน่นของไอออนที่อยู่รอบๆอนุภาคและประจุในของเหลวที่อยู่ล้อมรอบ อนุภาคเกิดขึ้นในกระบวนการโคแอกกูเลชันฟล็อกคูเลชัน (มีหน่วยเป็นมิลลิโวลต์) (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 การประเมินสูตรตำรับนาโนอิมัลชันด้วยเครื่อง Zetasizer

สูตรตำรับที่	Droplet Size		Zeta potential (mV)
	Z-Ave (nm)	PDI	
1	224.35 ± 46.84	0.57 ± 0.23	-7.99 ± 1.96

2	223.52 ± 63.71	0.39 ± 0.08	-7.38 ± 1.23
3	173.13 ± 15.69	0.55 ± 0.22	-6.47 ± 0.82
4	167.60 ± 86.94	0.43 ± 0.24	-6.63 ± 0.98
5	201.72 ± 21.23	0.60 ± 0.23	-7.15 ± 1.56

บทที่ 4

สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล

สรุปและอภิปรายผลการศึกษิตตามวัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาเภสัชภัณฑ์ตำรับนาโนอิมัลชันสเปรย์จากน้ำมัน damascenone สกัดจากใบผักบั้งทะเล

สกัดผักบั้งทะเลด้วยวิธีการแตกต่างกันเพื่อทดสอบหาวิธีที่ดีที่สุดในการสกัดและระบุสารสำคัญในใบผักบั้งทะเล โดยการสกัดที่ให้ปริมาณสารสกัดสูงสุดและมีฤทธิ์ทางชีวภาพและมีฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระในตริกออกไซด์สูง ได้แก่ การสกัดใบแห้งของผักบั้งทะเลแบบพ่นฝอย (spray dry) โดยมีสารสำคัญคือ ยูจีนอล (eugenol) เควอซีทิน (Quercetin) เควอซีทินทรีกลูโคไซด์ (Quercetin-3-glucoside) และกรดควินิก (3,5-Di-O-caffeoylquinic acid) และการสกัดเอาสดด้วยสารทำความเย็น R134a (ส่วนของน้ำมัน) ซึ่งให้สารสำคัญคือ เบต้า เดมาซีนอน (β -damascenone) ซึ่งเป็นกลุ่มสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบและแก้พิษแมงกะพรุน จากนั้นจึงนำสารสกัดทั้งสองวิธีมาพัฒนาสูตรตำรับนาโนอิมัลชันสเปรย์จากน้ำมันจากใบผักบั้งทะเลจำนวน 5 สูตร และทำการทดสอบทางกายภาพ ได้แก่ สี กลิ่น ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) และเนื้อสัมผัส เมื่อทดสอบความคงตัวด้วยการเก็บรักษาสูตรตำรับที่อุณหภูมิห้องเพื่อหาสูตรที่มีความคงตัวสูงที่สุดสำหรับนำไปใช้ต่อยอดในการสร้างนวัตกรรมใหม่ในเชิงพาณิชย์

ตารางที่ 13 ลักษณะทางกายภาพของตำรับนาโนอิมัลชัน

สูตร	สี	กลิ่น	ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)	เนื้อสัมผัส
1	สีน้ำตาลอ่อน	หอมกลิ่นของเมนทอล	4.58±0.03	เป็นของเหลวใส ซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ง่าย แต่มีความมันและเหนียวเล็กน้อย สารสกัดผักบั้งทะเลละลายไม่หมด มีกลิ่นหอมเล็กน้อย และมีการแยกชั้นเล็กน้อยเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2	สี น้ำตาล อ่อน	หอมกลิ่น ของ เมนทอล	4.53±0.11	เป็นของเหลวใส ซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ง่าย ความมัน น้อยลงและเหนียวน้อยกว่าสูตรที่ 1 สารสกัด ผักบุ้งทะเลละลายไม่หมด มีกลิ่นหอมเล็กน้อย แต่มี การแยกชั้นเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง
3	สีขาว ขุ่น	หอมกลิ่น ของ เมนทอล	4.49±0.12	เป็นของเหลวขาวขุ่นเหมือนน้ำมัน ซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ ดีแต่ใช้เวลามากขึ้น มีความมันและเหนียวเล็กน้อย มี กลิ่นหอมเล็กน้อย และมีการแยกชั้นเล็กน้อยเมื่อทิ้ง ไว้ที่อุณหภูมิห้อง
4	สีขาว ขุ่น	หอมกลิ่น ของ เมนทอล	4.51±0.03	เป็นของเหลวขาวขุ่นเหมือนน้ำมัน ซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ ดีแต่ใช้เวลามากขึ้น มีความมันและเหนียวน้อยกว่า การใช้ Tween60 มีกลิ่นหอมเล็กน้อย และมีการ แยกชั้นเล็กน้อยเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง
5	สี น้ำตาล	หอมกลิ่น ของ เมนทอล	4.55±0.06	เป็นของเหลวสีน้ำตาล มีความขุ่นเนื่องจากการลด ปริมาณเอทานอล ซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดี มีความมัน และเหนียวเล็กน้อย มีกลิ่นหอมเล็กน้อย และมีการ แยกชั้นเล็กน้อยเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2. เพื่อศึกษาความคงตัวและการประสิทธิผลการนำส่งน้ำมันในการรักษาอาการแพ้ผื่นคันและ
พิษจากแมงกะพรุน

ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดผักบุ้งทะเลในแมคโครฟาจ RAW 264.7 เพื่อศึกษาฤทธิ์ด้านการ
อักเสบ พบว่า สารสกัดผักบุ้งทะเลมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบโดยใช้ความเข้มข้น 250 µg/ml ซึ่งไม่มี
ความเป็นพิษต่อเซลล์ นอกจากนี้ยังมีการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังด้านนอก (Human
Keratinocyte Cell Line, HaCaT cells) และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนัง (Normal Human Dermal
Fibroblast, NHDF) เพื่อประเมินโอกาสในการแพ้ต่อผิวหนังมนุษย์ พบว่า ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์
ผิวหนังมนุษย์ ซึ่งการใช้สารสกัดผักบุ้งทะเลมีความปลอดภัยและเหมาะสมในการพัฒนาเป็นต้นแบบ
ผลิตภัณฑ์

ผลการเก็บรักษาสูตรตำรับทั้ง 5 สูตรที่อุณหภูมิห้อง พบว่า การใช้ Tween60 เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ดีที่สุดในการพัฒนาสูตรตำรับ เนื่องจากมีความคงตัว มีความมันและความชื้นเล็กน้อย สามารถซึมเข้าสู่ผิวได้ดี ไม่เกิดความระคายเคืองต่อผิว

ข้อเสนอแนะการวิจัย

1. ด้านประสิทธิภาพของสูตรตำรับนาโนอิมัลชันสเปรย์จากน้ำมัน damascenone สกัดจากใบผักบุ้งทะเล

เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นเพียงการพัฒนาสูตรตำรับนาโนอิมัลชันสเปรย์จากน้ำมันสกัดจากใบผักบุ้งทะเล ซึ่งเป็นนวัตกรรมใหม่จากธรรมชาติสำหรับการรักษาอาการแพ้ผื่นคันและพิษแมงกระพรุน จึงยังไม่ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพการรักษาอาการแพ้ผื่นคันและพิษแมงกระพรุนในอาสาสมัคร จึงควรเพิ่มระดับการศึกษาในทางคลินิกเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการรักษาพิษแมงกระพรุนสำหรับการส่งออกนวัตกรรมไปสู่ท้องตลาดในอนาคต

2. ด้านพัฒนาสูตรตำรับนาโนอิมัลชันจากน้ำมัน Damascenone ในสารสกัดใบผักบุ้งทะเล

ต้องปรับปรุงและพัฒนาสูตรให้ได้ลักษณะทางกายภาพและลักษณะทางเคมีที่มีความเหมาะสม เนื่องจากสูตรตำรับในปัจจุบันอยู่ในรูปแบบอิมัลชันในรูปแบบที่ต้องการ แต่ด้วยข้อจำกัดของเครื่องมือที่ใช้และประเภทของสารสกัดในปัจจุบันทำให้ขนาดของอนุภาคอิมัลชันยังอยู่ในช่วงไมโครอิมัลชันถึงนาโนอิมัลชัน อาจต้องใช้เครื่องมือขั้นสูงเพื่อช่วยในการลดขนาดอนุภาคอิมัลชันให้อยู่ในระดับนาโนอิมัลชันในทุกอนุภาคของการเตรียม

เอกสารอ้างอิง

1. จันทรวรรณ แสงแข, นภาพรณ ใ่อ้วงศ์ญาติ และสุนันทา โอศิริ.
การตายของเซลล์มะเร็งแบบอะโพโทซิสโดยสารสกัด ผักบุงทะเลที่สกัดโดยวิธีที่แตกต่างกัน.
[อินเทอร์เน็ต]. สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา. 2557 [เข้าถึงเมื่อ 28 ก.ย. 2560].
เข้าถึงได้จาก: http://digital_collect.lib.buu.ac.th/dcms/files//2559_039
2. ชุตินา ลิ้มมหาวาภิรดี สนทยา ลิ้มมหาวาภิรดี และศิริกาญจน์ เฟ็งอัน.
การพัฒนานาโนอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้เป็นสารต้านจุลชีพสำหรับในช่องปาก.
รายงานการวิจัย ของสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร. 2558
3. เทพิน จันท์มหเสถียร. การพัฒนาโลชั่นน้ำมันงาในรูปแบบนาโนอิมัลชัน = Development of Sesame oil nanoemulsion lotion / เทพิน จันท์มหเสถียร. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ; 2552.
4. ไทยพีบีเอส (Thai PBS). "ดร.ธรณ์" เผย 3 สาเหตุแมงกะพรุนกล่องเพิ่มจำนวน.
[อินเทอร์เน็ต]. 2558 สิงหาคม 6. [เข้าถึงเมื่อ 29 ก.ย. 2560]. เข้าถึงได้จาก:
<http://news.thaipbs.or.th/content/4188>
5. ธรรมาภรณ์ บุญวิสุทธิ. Jellyfish strings. [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 2 ต.ค. 2560].
เข้าถึงได้จาก: <http://www.errama.com/system/spaw2/uploads/files/jellyfish.pdf>
6. ธัญญรัตน์ ไตรบัญญัติกุล มยุรี กัลยาวัฒน์กุล และอรุชา รักษัตานนท์ชัย.
นาโนอิมัลชันจากน้ำมันเมล็ดทับทิม. [อินเทอร์เน็ต]. 2555. [เข้าถึงเมื่อ 2 ต.ค. 2560]. เข้าถึงได้จาก:
<http://cosmetic-sci.mfu.ac.th//download210856/proceeding%20QA55/15.pdf>
7. นริศา สาสีงาม และมนต์ทิพย์ ชำซอง. นาโนอิมัลชันของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร : ดอกกานพลู ที่เตรียมโดยวิธี aqueous titration. [อินเทอร์เน็ต]. 2555. [เข้าถึงเมื่อ 2 ต.ค. 2560].
เข้าถึงได้จาก: http://researchconference.kps.ku.ac.th/article_9/pdf/o_sci_tech26.pdf
8. พัชรี สุนทรพะลิน ศศิธร วสุวัต.
การใช้ครีมผักบุงทะเลรักษาผิวหนังอักเสบที่เกิดจากแมงกะพรุน. สารศิริราช 2528;37(5):329-38.
9. พิชัย นิรมานสกุล. พฤติกรรมการท่องเที่ยว การเปิดรับข่าวสาร การรับรู้ภาพลักษณ์ และการยอมรับคุณค่าแบรนด์เมืองท่องเที่ยวไทย. [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ; คณะนิเทศศาสตร์

มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย; 2554 [เข้าถึงเมื่อ 28 ก.ย. 2560]. เข้าถึงได้จาก:

<http://eprints.utcc.ac.th/1725/3/1725fulltext.pdf>

10. เมดไทย (MedThai). ผักบุงทะเล สรรพคุณและประโยชน์ของผักบุงทะเล 22 ข้อ !.

[อินเทอร์เน็ต]. 2560. [เข้าถึงเมื่อ 2 ต.ค. 2560]. เข้าถึงได้จาก:

<https://medthai.com/%E0%B8%9C%E0%B8%B1%E0%B8%81%E0%B8%9A%E0%B8%B8%E0%B9%89%E0%B8%87%E0%B8%97%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%A5/>

11. วรนนท์ รังสิมาวงศ์ ธนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์.

นาโนอิมัลชันในระบบนำส่งยาผ่านทางผิวหนัง. ไทยเภัชชย นิพนธ์ (Thai Bulletin of Pharmaceutical Sciences). 2015 Mar 24;9(2):46-61.

12. วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. Damascenone. [อินเทอร์เน็ต]. 2560 [เข้าถึงเมื่อ 2 ต.ค. 2560].

เข้าถึงได้จาก <https://en.wikipedia.org/wiki/Damascenone>

13. ศศิธร วสุวัต พัชรี สุนทรพะลิน. ข้อมูลงานวิจัยสมุนไพรผักบุงทะเล *Ipomoea pes-caprae* (Linn.) Roth เป็นยาแก้แพ้พิษฮีสตามีนและพิษแมงกะพรุน.

รายงานการวิจัยของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 1984.

14. ศิริพงศ์ ชอบแต่ง. ทำอย่างไรเมื่อถูกพิษของแมงกะพรุน. สำนักจัดการคุณภาพน้ำ

กรมควบคุมมลพิษ. [อินเทอร์เน็ต]. 2559 พฤษภาคม. [เข้าถึงเมื่อ 28 ก.ย. 2560]. เข้าถึงได้จาก:

<http://wqm.pcd.go.th/water/images/marine/media/2559/maenggaprun.pdf>

15. ศูนย์พิษวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข. แมงกะพรุนกล่อง (Box jellyfish).

[อินเทอร์เน็ต]. ตุลาคม 2558. [เข้าถึงเมื่อ 2 ต.ค. 2560]. เข้าถึงได้จาก:

http://www.dmsc.moph.go.th/secretary/pr/mass-news/mass-news_2558/10_Oct/%E0%B9%81%E0%B8%A1%E0%B8%87%E0%B8%81%E0%B8%B0%E0%B8%9E%E0%B8%A3%E0%B8%B8%E0%B8%99%E0%B8%81%E0%B8%A5%E0%B9%88%E0%B8%AD%E0%B8%87.pdf

16. สายจิต ดาวสุโข. แมงกะพรุนสายพันธุ์อันตรายแห่งท้องทะเล. [อินเทอร์เน็ต]. 2558.

[เข้าถึงเมื่อ 2 ต.ค. 2560]. เข้าถึงได้จาก: http://lib3.dss.go.th/fulltext/dss_J/2558_63_199_p33-35.pdf

17. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. ผักบุงทะเล. [อินเทอร์เน็ต].

2560 [เข้าถึงเมื่อ 28 ก.ย. 2560]. เข้าถึงได้จาก:

<http://medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/ipomoea.html>

18. สำนักบรรดาวิทยา/สำนักสื่อสารความเสี่ยงฯ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. กรมควบคุมโรค เตือนเล่นน้ำทะเลช่วงฝนตก ระวังแมงกะพรุนมีพิษ หลังสัปดาห์ที่แล้วพบผู้บาดเจ็บสงสัยพิษแมงกะพรุน 3 ราย. [อินเทอร์เน็ต]. 2560 พฤษภาคม 18. [เข้าถึงเมื่อ 28 ก.ย. 2560]. เข้าถึงได้จาก:

<http://riskcomthai.org/en//2017/detail.php?id=35686&m=news&gid=1-001-002>

19. สุนันทา โอศิริ นภภรณ์ เอื้อวงศ์ญาติ จันทวรรณ แสงแข ทวีรัตน์ ทับทิมทอง กรกช ประภาศิตศิลป์ และศุภณัฐ กันตะนา. การสกัดผักบุงทะเลเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์สุขภาพจากธรรมชาติ. รายงานวิจัยของคณะกรรมการแพทย์แผนไทยอภัยภูเบศร มหาวิทยาลัยบูรพา. 2557.

20. หนังสือพิมพ์ฐานเศรษฐกิจออนไลน์. เผยตลาดสมุนไพรโลกขยายตัวตามกระแสสุขภาพ-ความงาม ซึ่ปี 63 ภาพรวมพุ่งกว่าแสนล้านเหรียญฯ. [อินเทอร์เน็ต]. 2559 สิงหาคม 11. [เข้าถึงเมื่อ 28 ก.ย. 2560]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.thansettakij.com/index.php/content/84270>

21. อ่ำพล ไมตรีเวช ณรงค์ สาริสุต ดวงมณี มณีโรจน์ภักดี และวสุ วิฑูรย์สฤกษ์ศิลป์. การพัฒนาอนุภาคนาโนและระบบนำส่ง ตอนที่ 4. ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2556. [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 3 ต.ค. 2560]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/170>

22. อ่ำพล ไมตรีเวช ณรงค์ สาริสุต ดวงมณี มณีโรจน์ภักดี และวสุ วิฑูรย์สฤกษ์ศิลป์. การพัฒนาอนุภาคนาโนและระบบนำส่ง ตอนที่ 3. ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2556. [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 2 ต.ค. 2560]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/knowledge/files/0157.pdf>

23. เอเอสทีวี (ASTV) ผู้จัดการออนไลน์. เตือนนักท่องเที่ยวเล่นน้ำทะเลภูเก็ต ระวัง “แมงกะพรุนไฟ” อลระวาด. ผู้จัดการออนไลน์. [อินเทอร์เน็ต]. 2554 มิถุนายน 21. [เข้าถึงเมื่อ 28 ก.ย. 2560]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.manager.co.th/Local/ViewNews.aspx?NewsID=9540000075587>

24. Aswal BS, Bhakuni DS, Goel AK, Kar K, Mehrotra BN, Mukherjee KC. Screening of Indian plants for biological activity: part X. Indian J Exp Biol 1984;22(6):312-32.

25. Bhakuni DS, Dhawan BN, Garg HS, Goel AK, Mehrotra BN, Srimal RC, Srivastava MN. Bioactivity of marine organisms: part VI-screening of some marine flora from Indian coasts. Indian J Exp Biol 1992;30(6): 512-7.

26. Cox PA, Sperry LB, Tuominen M, Bohlin L. Pharmacological activity of the Samoan ethnopharmacopoeia. *Econ Bot* 1989;43(4):487-97.
27. Cwalina GE, Jenkins GL. A phytochemical study of *Ipomea pes-caprae*. *J Amer Pharm Ass* 1938;27:585.
28. Groupjellyfish. ชนิดของแมงกระพรุน. [อินเทอร์เน็ต]. 28 มีนาคม 2559. [เข้าถึงเมื่อ 2 ต.ค. 2560]. เข้าถึงได้จาก: <https://groupjellyfish.wordpress.com/2016/03/28/dlfdkdf/>
29. Kong M, Chen XG, Kweon DK, Park HJ. Investigations on skin permeation of hyaluronic acid based nanoemulsion as transdermal carrier. *Carbohydr Polym.* 2011;86(2):837-43.
30. Marketeer. 6 เทรนด์ความงามโลก 2018. [อินเทอร์เน็ต]. 2017 february 16. [เข้าถึงเมื่อ 28 ก.ย. 2560]. เข้าถึงได้จาก: <http://marketeer.co.th/archives/110364>
31. Ostraff M, Anitoni K, Nicholson A, Booth GM. Traditional Tongan cures for morning sickness and their mutagenic / toxicological evaluations. *J Ethnopharmacol* 2000; 71(1/2):201-19.
32. Puglia C, Rizza L, Drechsler M, Bonina F. Nanoemulsions as vehicles for topical administration of glycyrrhetic acid: Characterization and in vitro and in vivo evaluation. *Drug Deliv.* 2010;17(3):123-9.
33. Salim, N., Basri, M., Abd. Rahman, M. B., Abdullah, D. K., Basri, H. & Salleh, A. B. (2011). Phase behaviors, formation and characterization of palm-based esters nanoemulsion formulation containing ibuprofen. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 2(4), 113.
34. Shafiq-un-Nabi, S., Shakeel, F., Talegaonkar, S., Ali, J., Baboota, S., Ahuja, A., Khar, R.K., and Ali, M. 2007. Formulation Development and Optimization using Nanoemulsion Technique: a Technical Note. *AAPS PharmSciTech*, 8(2).pp: E1-E6.
35. Zhou H, Yue Y, Liu G, Li Y, Zhang J, Gong Q, et al. Preparation and Characterization of Lecithin Nanoemulsion as a Topical Delivery System. *Nanoscale Res Lett.* 2010; 5: 224-30.

36. Ariyaprakai, S. Nanoemulsion Production by Simple and Low Energy Method. *Food and Applied Bioscience Journal*. 2017; 5(3), 155-164.
37. Just, J., Bunton, G. L., Deans, B. J., Murray, N. L., Bissember, A. C., & Smith, J. A. (2016). Extraction of eugenol from cloves using an unmodified household espresso machine: an alternative to traditional steam-distillation. *Journal of Chemical Education*, 93(1), 213-216.
38. da Silva Barth, C., de Souza, H. G. T., Rocha, L. W., da Silva, G. F., dos Anjos, M. F., Pastor, V. D. A., ... & Quintão, N. L. M. (2017). Ipomoea pes-caprae (L.) R. Br (Convolvulaceae) relieved nociception and inflammation in mice—A topical herbal medicine against effects due to cnidarian venom-skin contact. *Journal of ethnopharmacology*, 200, 156-164.

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary)

ข้าพเจ้า ญ.ดร.ณัฐฉิณี อธิษฐานจิตตพิงศ์ ได้รับทุนสนับสนุนโครงการวิจัย จากมหาวิทยาลัยบูรพา ประเภทงบประมาณรายได้ จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) มหาวิทยาลัยบูรพา โครงการวิจัยเรื่อง (ภาษาไทย) การพัฒนาเภสัชภัณฑ์ต้นแบบนาโนอิมัลชันสเปรย์จากน้ำมัน Damascenone ในสารสกัดใบผักบุ้งทะเลส่งเสริมภูมิปัญญาท้องถิ่นในการรักษาอาการแพ้ผื่นคันและพิษจากแมงกะพรุน

(ภาษาอังกฤษ) Development of Pharmaceutical nanoemulsion spray from Damascenone oil in *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. leaf extract to promotes local wisdom in the treatment of allergic dermatitis and jellyfish poisoning

สัญญาเลขที่ ...45.6/2562... ได้รับงบประมาณรวมทั้งสิ้น 1,048,000 บาท (หนึ่งล้านบาทหนึ่งแปดพันบาทถ้วน) ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี 6 เดือน (ระหว่างวันที่ 1 ตุลาคม 2561 ถึงเดือน 31 มีนาคม 2564)

บทคัดย่อ

การเพิ่มประสิทธิภาพของสมุนไพรด้วยนาโนเทคโนโลยีในรูปของอนุภาคนาโนและระบบนำส่งทางผิวหนัง เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการนำส่งสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนังได้ดีขึ้น ช่วยลดความเป็นพิษต่อเซลล์ ช่วยเพิ่มความคงตัวของสารสำคัญ และง่ายต่อการเตรียมสูตรตำรับทั้งในส่วนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาน้ำมัน Damascenone และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ที่เป็นสารออกฤทธิ์สำคัญจากใบผักบุ้งทะเล มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบนาโนอิมัลชันซึ่งทำให้สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ได้ดีขึ้น มีความคงตัวสูง เพื่อเพิ่มมูลค่าและนำไปสู่การพัฒนาเทคโนโลยีและนวัตกรรมใหม่ โดยการศึกษาวิธีการสกัดต่างๆเพื่อหาวิธีที่เหมาะสมเพื่อให้ได้สารสกัดปริมาณสูงและมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง จากนั้นจึงวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารสำคัญในผักบุ้งทะเล เพื่อเลือกสารสกัดจากวิธีการสกัดที่ดีที่สุดในการพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์เพื่อนำไปทดสอบในเชิงพาณิชย์ได้ ทดสอบลักษณะทางกายภาพและลักษณะทางเคมีของต้นแบบผลิตภัณฑ์ จากการทดสอบพบว่า การสกัดใบผักบุ้งทะเลแห้งด้วยวิธีการพ่นฝอย (spray dry) ให้ปริมาณสารสกัดสูงที่สุด มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง ที่ความเข้มข้น 250 µg/ml สามารถลดปริมาณ NO radical ในเซลล์ Raw264.7 ได้ดี ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ Raw264.7 เซลล์ไตลิง (Vero cell) เซลล์ผิวหนังด้านนอก (Human Keratinocyte Cell Line, HaCaT cells) และ

เซลล์ไฟโบรบลาสผิวหนัง (Normal Human Dermal Fibroblast, NHDF) และมีสารสำคัญคือ ยูจีนอล (eugenol) ($100.17 \pm 0.38 \mu\text{g/mL}$) เควอซิทินทริกลูโคไซด์ (Quercetin-3-glucoside) ($54.09 \pm 0.94 \mu\text{g/mL}$) และกรดควินิก (3,5-Di-O-caffeoylquinic acid) ($28.61 \pm 1.39 \mu\text{g/mL}$) ในปริมาณสูง ซึ่งมีส่วนช่วยในการลด NO จากกระบวนการอักเสบ นอกจากนี้การสกัดเอสเตรสด้วยสารทำความสะอาด R134a (ส่วนของน้ำมัน) ซึ่งให้สารสำคัญคือ ยูจีนอล (eugenol) ($10.84 \pm 0.97 \mu\text{g/mL}$) เควอซิทิน (Quercetin) ($0.39 \pm 0.15 \mu\text{g/mL}$) เควอซิทินทริกลูโคไซด์ (Quercetin-3-glucoside) ($7.57 \pm 0.40 \mu\text{g/mL}$) เบต้า เดมาสซิโนน (β -damascenone) ($0.0448 \pm 0.1029 \mu\text{g/mL}$) และกรดควินิก (3,5-Di-O-caffeoylquinic acid) ($9.41 \pm 0.32 \mu\text{g/mL}$) ซึ่งเบต้า เดมาสซิโนนเป็นสารสำคัญในการแก้พิษแมงกะพรุน จึงได้นำสารสกัดจากสองวิธีการสกัดมาใช้ในการพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์โดยใช้ Tween60 เป็นสารลดแรงตึงผิว ซึ่งช่วยให้เกิดต้นแบบผลิตภัณฑ์อิมัลชัน ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) อยู่ที่ประมาณ 4.55 ± 0.06 ผลิตภัณฑ์ต้นแบบเป็นของเหลวสีน้ำตาล มีความขุ่นเนื่องจากการลดปริมาณเอทานอล ซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดี มีความมันและเหนียวเล็กน้อย และมีกลิ่นหอมเล็กน้อย อนุภาคอิมัลชันมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ ผลการศึกษานี้สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดในระดับอุตสาหกรรมได้

Output/ Outcome

ได้วิธีการในการสกัดสารสำคัญ Damascenone ในปริมาณสูง พร้อมทั้งการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการอักเสบ ร่วมกับการใช้เทคโนโลยีนาโนอิมัลชันโดยหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่าง oil : surfactant การวัดขนาดอนุภาคนาโนอิมัลชัน และการวัดค่าความเป็นกรดเบส (pH) เพื่อพัฒนาเป็นเภสัชภัณฑ์ต้นแบบนาโนอิมัลชันสเปรย์จากน้ำมัน Damascenone ในสารสกัดใบผักบุ้งทะเลส่งเสริมภูมิปัญญาท้องถิ่นในการรักษาอาการแพ้ผื่นคันและพิษจากแมงกะพรุน พร้อมทั้งการทดสอบความคงตัวในอุณหภูมิห้องและในสภาวะเร่ง เป็นการเพิ่มมูลค่าจากพืชสมุนไพรท้องถิ่นด้วยเทคโนโลยีสมัยใหม่ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นเพียงการพัฒนาสูตรตำรับนาโนอิมัลชันสเปรย์จากน้ำมัน Damascenone สกัดจากใบผักบุ้งทะเล ซึ่งเป็นนวัตกรรมใหม่จากธรรมชาติสำหรับการรักษาอาการแพ้ผื่นคันและพิษแมงกะพรุน จึงยังไม่ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพการรักษาอาการแพ้ผื่นคันและพิษแมงกะพรุนในอาสาสมัคร จึงควรเพิ่มระดับการศึกษาในทางคลินิกเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการรักษาพิษแมงกะพรุนสำหรับการส่งออกนวัตกรรมไปสู่ท้องตลาดในอนาคต

รายงานสรุปการเงิน

เลขที่โครงการระบบบริหารงานวิจัย (NRMS 13 หลัก)..56339...สัญญาเลขที่ 45.6/2563

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2562..... มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การพัฒนาเภสัชภัณฑ์ต้นแบบนาโนอิมัลชันสเปรย์จากน้ำมัน Damascenone

ในสารสกัดใบผักบุ้งทะเลส่งเสริมภูมิปัญญาท้องถิ่นในการรักษาอาการแพ้ผื่นคันและพิษจากแมงกะพรุน

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ญ.ดร.ณัฐฉิณี ธีรกุลกิตติพงศ์

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่....1 ตุลาคม 2561.....ถึงวันที่...31 มกราคม 2564....

ระยะเวลาดำเนินการ...2...ปี3..... เดือน ตั้งแต่วันที่....1 ตุลาคม 2561.....

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1 (50%) 524,000 ... บาท เมื่อวันที่ เดือน ปี.....เดือนตุลาคม 2561.....

งวดที่ 2 (40%) 419,200 ... บาท เมื่อวันที่ เดือน ปี.....เดือนมีนาคม 2562.....

งวดที่ 3 (10%) 104,800 ... บาท เมื่อวันที่ เดือน ปี.....เดือนกันยายน 2562.....

รวม 1,048,000

รายจ่าย

รายการ	งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ใช้จริง	จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน
1. ค่าตอบแทน	80,000	80,000	0
2. ค่าจ้าง	384,000	384,000	0
3. ค่าวัสดุ	370,000	370,000	0
4. ค่าใช้สอย	117,200	117,200	0
5. ค่าครุภัณฑ์	-	-	0
6. ค่าใช้จ่ายอื่น ๆ	96,800	96,800	0
6.1 ค่าธรรมเนียมอุดหนุนสถาบัน			0
รวม	1,048,000	1,048,000	0

(.....)

ญ.ดร.ณัฐฉิณี ธีรกุลกิตติพงศ์

หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน